



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Nutrición

Efecto del pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición

AUTOR

Jossue Humberto PAREDES CONTRERAS

ASESOR

Dr. Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Paredes J. Efecto del pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Nutrición; 2020.

Información complementaria

Código ORCID del asesor (es)	0000-0002-6224-9165
Autor	Jossue Humberto Paredes Contreras
DNI o Pasaporte /carnet de extranjería (sólo extranjeros)	70569362
Asesor DNI	Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez 10454580
Código ORCID del autor	No
Grupo de investigación	SALUTARIS CIBUS ET PLANTAE
Financiamiento	Vicerrectorado de Investigación y Posgrado (código: A19010164)
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación (incluirse localidades y/o coordenadas geográficas).	Centro de investigación de Bioquímica y Nutrición – Facultad de Medicina - UNMSM
Año o rango de años que la investigación abarcó.	3 años



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina
Escuela Profesional de Nutrición

«Año de la universalización de la salud»

ACTA N.º004 SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN NUTRICIÓN¹
Autorizado por RD-0608-2020-D-FM

1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN : 20 DE MAYO DEL 2020

HORA INICIO : 4:32 pm

HORA TÉRMINO : 5:28 pm

2. MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE : Dra. María Mercedes Soberón Lozano - Docente Principal

MIEMBRO : Mag. Luis Pavel Palomino Quispe - Docente Auxiliar

MIEMBRO : Lic. Marita Lozano Cueva - Docente Auxiliar

ASESOR : Dr. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez - Docente Asociado

3. DATOS DEL TESISTA

APELLIDOS Y NOMBRES : Jossue Humberto Paredes Contreras

CÓDIGO : 15010222

R.R. DE GRADO DE BACHILLER : N° 012250-2020-R/UNMSM

TÍTULO DE LA TESIS*: Efecto del pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango)
sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones

*(Aprobado con RD N° 0228-D-FM-2019)

¹ Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:

<https://medical-int.zoom.us/j/98906961095>

ID: 989 0696 1095

Grabación archivada en DRIVE: SECRETARIA/4-SUSTENTACIÓN/GRABACIONES



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina
Escuela Profesional de Nutrición

«Año de la universalización de la salud»

4. RECOMENDACIONES:

5. NOTA OBTENIDA:

18

(dieciocho)

6. PÚBLICO ASISTENTE:

No	Nombre y Apellidos	DNI
1	Brighet Yoselin Hilario Bendezu	74284372
2	Olenka Isabel Puelles Samaniego	77476759
3	Elena Amalia Mayta Arrunátegui	73822514
4	Sergio Fernando Cornetero Visaurre	71618975
5	Yelena Yaneth Hilario Chuquillanqui	70904861



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina
Escuela Profesional de Nutrición

«Año de la universalización de la salud»

7. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO

Estando de acuerdo con la presente acta, el Jurado de Sustentación firma en señal de conformidad.

Dra. María Mercedes Soberón Lozano

Docente Principal

Presidente

Mag. Luis Pavel Palomino Quispe
Docente Auxiliar
Miembro

Lic. Marita Lozano Cueva
Docente Auxiliar
Miembro

Dr. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Docente Asociado

Asesor



DEDICATORIA:

Dedico esta investigación y todo el esfuerzo empleado en los cinco años de estudio y a lo largo de la aplicación de la tesis, a mi madre Yanett, por su apoyo incondicional en todo momento a lo largo de mi formación profesional en pre grado, estando agradecido de por vida por su amor, cariño y paciencia en todo momento.

A mis abuelos Claudio y Graciela, por los valores inculcados a lo largo de mi niñez y adolescencia, por su constante motivación en los momentos difíciles y su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS:

A Dios por brindarme salud, perseverancia y fortaleza para la aplicación y desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Oscar Huamán por la ayuda brindada, por las recomendaciones y críticas en la mejora del presente estudio y por la dedicación y pasión que tiene como docente y asesor de tesis, gracias por la paciencia con cada uno de sus alumnos y por ser un ejemplo como docente con gran calidad educativa.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” de la Facultad de Medicina de la UNMSM por permitir la aplicación de la presente investigación. A la Escuela Profesional de Nutrición y a cada uno de los docentes por haber aportado con un granito de arena en mi formación profesional a lo largo de la carrera.

A mi madre por su apoyo incondicional en todo momento.

A mis abuelitos, por hacer de mi vida cada día más hermosa y por haberme criado y formado como una persona con buenos valores.

A mis compañeros de aula y laboratorio que me brindaron su apoyo para la ejecución de la tesis, en especial a mi compañera Olenka. A mis mejores amigos que me apoyaron incondicionalmente en toda la carrera universitaria, gracias a todos por motivarme a concluir este trabajo.

Finalmente, al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado por el financiamiento de la presente investigación.

TABLA DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	10
2.1.	Hipótesis	9
2.2.	Objetivos	9
III.	METODOLOGÍA	10
3.1.	Tipo de investigación	10
3.2.	Muestra	10
3.3.	Variables	10
3.4.	Operacionalización de Variables	11
3.5.	Materiales	12
3.6.	Recolección de la muestra	13
3.7.	Acondicionamiento de la unidad de análisis	13
3.8.	Método de inducción a hepatotoxicidad	13
3.9.	Preparación del homogenizado	14
3.10.	Procesamiento de los indicadores bioquímicos	15
3.11.	Procesamiento de los indicadores morfológicos	16
3.12.	Análisis estadístico	17
3.13.	Consideraciones éticas	17
IV.	RESULTADOS	18
4.1.	Del análisis estadístico	18
4.2.	Niveles de lipoperoxidación	18
4.3.	Perfil de GSH	19
4.4.	Niveles de SOD y CAT	20
4.5.	Índice Hepático	21
4.6.	Descripción histológica	22
V.	DISCUSIÓN	25
VI.	CONCLUSIONES	34
VII.	RECOMENDACIONES	34
VIII.	BIBLIOGRAFÍA	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Grupo I (Suspensión de almidón al 1%)	24
Figura 2. Grupo II (Etanol al 5% + Suspensión de almidón al 1%)	24
Figura 3. Grupo III (Etanol al 5% + Silimarina)	24
Figura 4. Grupo IV (Etanol al 5% + Cáscara de mango (100mg/kg)	24
Figura 5. Grupo V (Etanol al 5% + Cáscara de mango (600mg/kg)	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución y tratamiento para evaluar la protección hepática	14
Tabla 2. Niveles de lipoperoxidación en homogenizado hepático según grupo de tratamiento	18
Tabla 3. Niveles de GSH reducido, GSH total y GSH reducido/oxidado según grupo de tratamiento	19
Tabla 4. Niveles de SOD, CAT y relación SOD/CAT según grupo de tratamiento	20
Tabla 5. Índice de daño hepático según grupo de tratamiento	21

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO I: Cáscara del <i>Mangifera indica</i> H. (mango) del mercado “Tres Regiones” de Carabayllo	47
ANEXO II: Descascarado y selección de la cáscara del <i>Mangifera indica</i> H. (mango)	48
ANEXO III: Procesamiento de los indicadores bioquímicos enzimáticos y no enzimáticos	49
ANEXO IV: Flujograma del diseño experimental	50
ANEXO V: Clasificación taxonómica de la planta <i>Mangifera indica</i>	51

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades hepáticas constituyen en el Perú y el mundo una de las más importantes causas de morbimortalidad, siendo el consumo crónico de alcohol uno de los principales factores de riesgo en el desarrollo de estas patologías. **Objetivo:** Determinar el efecto del pulverizado de cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones. **Materiales y métodos:** Experimental de tipo experimental puro con postprueba y un grupo control. Se emplearon 35 ratones machos albinos *Mus musculus* cepa BALB/c de tres meses de edad y cáscaras de *Mangifera indica* H. Las frutas fueron seleccionadas, lavadas y cortadas y raspadas para el posterior descarte de todo contenido comestible. Las cáscaras fueron llevadas a una estufa en 40° C por 72 horas para luego ser pulverizadas manualmente. El pulverizado obtenido fue cernido tres veces hasta obtener un polvo más fino. Finalmente, el polvo obtenido fue pesado y separado en diferentes envases para luego ser suspendido en un sistema coloidal de fécula de maíz (almidón) al 1%. Los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en todos los grupos. Se aplicó la técnica propuesta por Sandoval, et 2008 para inducir daño hepático con etanol al 5% en solución glucosada al 5% y colocado en bebederos para consumo *ad libitum* por cinco días vía peroral en los grupos II al V en horas de la mañana (9:00 a.m.). En horas de la tarde (4:00 p.m.) se administró suspensión en fécula de almidón al 1% en los grupos mencionados, siendo el medio de transporte para la Silimarina (70 mg/kg), cáscara de mango (100mg/kg) y cáscara de mango (900mg/kg) para los grupos III, IV y V, respectivamente. Los ratones fueron puestos en un ayuno de 12 horas para posterior laparotomía incisional abierta. Se extrajo el hígado y se distribuyó una porción para los análisis bioquímicos respectivos y otra para el análisis histológico. **Resultados:** En los grupos IV y V se observó un menor índice hepático de forma significativa respecto al grupo II. Asimismo, un menor nivel de lipoperoxidación ($p < 0,05$) y relación SOD/CAT ($p < 0,05$), con un aumento del perfil de GSH, lo cual fue confirmado lo encontrado en el análisis histológico. **Conclusiones:** La ingesta de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) presentó efecto hepatoprotector frente a la toxicidad del etanol en ratones.

PALABRAS CLAVES: *Mangifera indica* H, daño hepático, etanol, hepatoprotección

ABSTRACT

Introduction: Liver diseases are one of the most important causes of morbidity and mortality in Peru and the world, with chronic alcohol consumption being one of the main risk factors in the development of these pathologies. **Objective:** To determine the effect of *Mangifera indica* H. (mango) peel spray on ethanol-induced liver toxicity in mice. **Materials and methods:** Pure experimental type experimental with post-test and a control group. 35 male albino mice *Mus musculus* strain BALB / c of three months of age and *Mangifera indica* H husks were used. The fruits were selected, washed and cut and scraped for the later discard of all edible content. The shells were taken to an oven at 40°C for 72 hours and then manually pulverized. The obtained spray was sifted three times until obtaining a finer powder. Finally, the powder obtained was weighed and separated into different containers to be later suspended in a colloidal system of corn starch (starch) at 1%. Mice were randomly distributed in all groups. The technique proposed by Sandoval, et 2008 was applied to induce liver damage with 5% ethanol in 5% glucose solution and placed in drinking troughs for ad libitum consumption for five days orally in groups II to V in the morning hours (9:00 am). In the afternoon hours (4:00 pm), starch suspension of 1% starch was administered in the mentioned groups, being the means of transport for Silymarin (70 mg / kg), mango peel (100mg / kg) and mango peel (900mg / kg) for groups III, IV and V, respectively. Mice were fasted for 12 hours for subsequent open incisional laparotomy. The liver was removed and a portion was distributed for the respective biochemical analyzes and another for the histological analysis. **Results:** Groups IV and V show a significantly lower liver index compared to group II. Likewise, a lower level of lipoperoxidation ($p < 0.05$) and SOD / CAT ($p < 0.15$), with an increase in the GSH profile, which was confirmed by histological analysis. **Conclusions:** Intake of peel *Mangifera indica* H. (mango) peel showed hepatoprotective effect against ethanol toxicity in mice.

KEY WORDS: *Mangifera indica* H, liver damage, ethanol, hepatoprotection

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas crónicas (EHC) presentan una tasa elevada de morbilidad en el mundo, con una alarmante tendencia creciente en países desarrollados y en vías de desarrollo ⁽¹⁾, siendo la cirrosis hepática el estadio final y la expresión crónica más frecuente respecto a hepatopatías. Esta enfermedad es uno de los principales problemas de salud con repercusión pública a nivel global, siendo la decimocuarta causa de muerte en el mundo, la cuarta en Europa central y una de las diez primeras en países con ingreso económico mediano bajo ^(1,2). Dentro de sus factores causales en términos de frecuencia, se encuentra al consumo excesivo de alcohol con la más alta prevalencia, infecciones por virus hepatotrópicos (Hepatitis B y C), enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), y recientemente, la obesidad como ocasionales principales de injuria hepática ^(3, 4,5).

Según Blachier, el continente europeo presenta la mayor carga de enfermedad hepática en el mundo, de las cuales 170 000 muertes son asignadas a la cirrosis hepática y aproximadamente 47 000 son originadas por el adenocarcinoma hepático, ascendiendo a 29 millones de personas con algún tipo de afección en el hígado, ⁽⁵⁾. Las proyecciones recientes indican que la prevalencia y mortalidad por cirrosis y cáncer hepático podría aumentar debido al excesivo consumo tóxico de alcohol en el norte de Europa, por el incremento de las epidemias virales en el sureste del mencionado continente y por la creciente prevalencia de obesidad alrededor del mundo ⁽⁶⁾.

América Latina no es ajena a esta realidad, las hepatopatías se encuentran consideradas dentro de las diez primeras causas de muerte según los lineamientos básicos para el análisis de la mortalidad, con una tasa de defunción anual de 34 826 casos al año, constituyendo en México la quinta causa de muerte según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) del país mencionado ^(7, 8).

En el Perú, las enfermedades hepáticas han sido reconocidas como una de las principales causas de mortalidad, pasando así la cirrosis y otras enfermedades hepáticas crónicas, de la ubicación 10 en 1986 a ocupar el puesto 5 en el ranking de mortalidad del 2015 ⁽⁹⁾. Bustios (2007) reportó que en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, existió una tasa de defunción de 9,48 muertes por cada 100 000 habitantes, ocupando el 5° lugar, en el orden de magnitud entre defunciones generales y el 2° lugar entre enfermedades digestivas y hepatobiliares ⁽¹⁰⁾. Asimismo, en el Hospital Nacional Cayetano Heredia se encontró que fue la primera causa de demanda efectiva de hospitalización y uno de los principales motivos de consulta externa ^(10,11). En otro estudio en donde se determinó la mortalidad por enfermedades digestivas no cancerígenas, se encontró que las primeras causas de muerte fueron la fibrosis y cirrosis

del hígado, con mayor defunción en la costa norte del Perú ⁽¹²⁾, teniendo como principal factor de riesgo al consumo crónico de alcohol, repercutiendo sobre los determinantes sociales de la salud y conllevando a una pesada carga económica, social y sanitaria para las sociedades ⁽¹³⁾.

En Sudamérica, el Perú se encuentra ubicado en la sexta posición con respecto al consumo total de alcohol (8,1 L per cápita), con una ingesta aproximada de 12,4 L y 3,8 L para varones y mujeres respectivamente ⁽¹⁴⁾. Según el Instituto Nacional de Salud Mental (INSM) “Honorio Noguchi”, la edad de inicio para el consumo de alcohol es a los 12,6 años, variando desde los 11,9 años en la Sierra urbana hasta los 13,1 años en la región de Lima y Callao. Asimismo, se ha reportado que los mayores porcentajes de consumo se encuentra en los varones de Lima Metropolitana (95,6%), sugiriendo que este resultado se podría deber a la mayor facilidad al acceso de bebidas alcohólicas, así como a la presión psicológica y social de la ciudad ⁽¹⁵⁾.

El hígado es un órgano intratorácico, separado de la cavidad pleural y de los pulmones por el diafragma, ubicado en el hipocondrio derecho y con un peso aproximado de 2500g ⁽¹⁶⁾. Está fisiológicamente interpuesto entre el flujo sanguíneo que viene del espacio esplácnico y el resto del cuerpo, hecho que anticipa su importancia funcional homeostático-digestiva ⁽¹⁷⁾. El tejido del parénquima hepático está compuesto por dos lóbulos mayores (derecho e izquierdo) unidos por un tejido areolar extremadamente fino del cual se ramifican la vena porta, la arteria hepática, las venas hepáticas, vasos linfáticos, nervios, y dos lóbulos menores inferiores (cuadrado y caudado). La arteria hepática se encarga de transportar la tercera parte de la sangre procedente de la aorta, mientras que la vena hepática abastece las dos terceras partes restantes reuniendo la sangre del corazón y el tubo digestivo ⁽¹⁸⁾.

Cada lóbulo contiene unidades más pequeñas llamadas lobulillos, siendo este la unidad histológica del hígado. El lobulillo hepático está organizado alrededor de las venas hepáticas centrolobulillares con columnas de hepatocitos que se irradian hacia el exterior. La unidad funcional del hígado, por su constitución, es el acino hepático, el cual presenta dimensiones y morfología irregular estando organizado entre un par de venas centrolobulillares y cuyo eje consiste de una arteriola hepática, una vénula portal y vasos linfáticos ⁽¹⁷⁾.

Esta glándula presenta una alta versatilidad debido a que realiza más de 500 funciones esenciales en el organismo, entre las principales se encuentran el metabolismo de carbohidratos, transformando los productos de la digestión como galactosa y fructosa en glucosa, almacenando energía bajo la forma de glucógeno (glucogénesis) en estados de hiperglicemia y devolviendo glucosa a la sangre

(glucogenólisis y gluconeogénesis) en estados de hipoglicemia; del mismo modo, metaboliza aminoácidos por medio de reacciones de transaminación y desaminación oxidativa para la producción de energía y glucosa. También se ha involucrado en la síntesis de aminoácidos no esenciales, además de participar en la síntesis de factores de coagulación sanguínea (fibrinógeno, protrombina, factor VIII, etc) y proteínas séricas entre las que se encuentran la albúmina, α -globulinas, β -globulinas, transferrina, ceruloplasmina y lipoproteínas ⁽¹⁹⁾.

Asimismo, participa en el metabolismo de lípidos, oxidando ácidos grasos (β -oxidación), catabolizando triglicéridos, formando radicales acetilos y activando el ciclo de Krebs para la posterior formación de energía ⁽²⁰⁾. El hígado está relacionado con el almacenamiento de micronutrientes como el zinc, hierro, cobre, manganeso, y vitaminas (D, A, K, E y B₁₂), convirtiendo el betacaroteno en vitamina A, el ácido fólico en ácido 5-metiltetrahidrofólico y la vitamina D en calcidiol (25-hidroxicolecalciferol), además se encarga de la síntesis y secreción de bilis, la cual es usada en el proceso de emulsificación y absorción de grasas ⁽¹⁸⁾.

De la misma manera, el hígado presenta funciones defensivas, produce a las células de Küpffer quienes constituyen el sistema fagocítico mononuclear, llegando a través del sistema circulatorio hacia toda la vascularización hepática para colonizar el parénquima, situándose en la superficie o en los lugares de reunión de los capilares sinusoidales, siendo su función fagocitar eritrocitos seniles, restos celulares y microorganismos ⁽²¹⁾. Finalmente, el hígado participa en la detoxificación de metabolitos, hormonas, drogas y alcohol, excretando fármacos por vía biliar mediante reacciones químicas de inactivación, modificación y conversión de liposolubilidad a hidrosolubilidad mediante el complejo proteico citocromo p450 ⁽¹⁷⁾.

Estas funciones se ven afectadas frente al consumo de sustancias xenobióticas, entre ellas el etanol, denominándose enfermedad hepática alcohólica al conjunto de afecciones que ocurren en el hígado asociadas al alcoholismo agudo o crónico. En este evento se incluyen tres etapas evolutivas en secuencia, el hígado graso o Esteatosis Hepática Alcohólica (EHA), la Hepatitis Alcohólica (HA) y la esteatofibrosis o Cirrosis Hepática Alcohólica (CHA), de las cuales la EHA simboliza la fase de origen, mientras que la HA y la CHA representan las fases consecutivas más severas de la misma.

En los últimos años uno de cada nueve individuos que consumen alcohol en exceso presentan EHA, de los cuales un 10-35% padecen de HA y solo el 8-20% progresan a CHA. No se conoce con exactitud el porqué algunos individuos están predispuestos a la CHA pero se han implicado algunos factores de susceptibilidad como

la edad, sexo, estado de nutrición, tabaquismo, patrones de bebida, factores genéticos, infecciones por virus hepatotrópicos, y exposición a hepatotoxinas ⁽²²⁾.

La mayor parte del alcohol consumido se metaboliza en el hígado, su absorción inicia en la mucosa de la vía oral y como gas en los alveolos pulmonares; no obstante, la cantidad absorbida a través de estos sistemas resulta minúscula. El segundo sector de absorción se encuentra en el estómago por difusión simple a través del epitelio gástrico y en el intestino delgado (duodeno y yeyuno), de forma que a los cinco minutos se encuentra en sangre y a los treinta minutos alcanza su máxima concentración ⁽²²⁾.

Una vez absorbido, el etanol llega al hígado por medio de la sangre proveniente de la circulación portal, luego sale por medio de la vena hepática hacia el corazón y finalmente a los pulmones, alcanzando tras su llegada a la circulación periférica, tejidos y fluidos del organismo. El 90% del alcohol es metabolizado en el hígado, en donde sufre dos procesos oxidativos que lo transforman primero en acetaldehído (AcH) y después en acetato, mientras que el 10% restante es descartado por los riñones, piel y pulmones ⁽²³⁾.

En el interior del hepatocito la oxidación de etanol a acetaldehído se da por tres sistemas enzimáticos diferentes, con orígenes, estructuras y mecanismos de acción particulares ⁽²⁴⁾. En el citosol celular encontramos al primer sistema de oxidación del etanol mediante la alcohol deshidrogenasa (ADH), siendo este el principal mecanismo de oxidación. La ADH es una enzima que emplea NAD^+ como cofactor, generando tras su oxidación un exceso de $\text{NADH} + \text{H}^+$, el cual rebasa la capacidad de la célula de conservar un estado de óxido-reducción adecuado. Dentro de las consecuencias del exceso de NADH y el déficit de NAD, encontramos a la conversión del piruvato en ácido láctico, en lugar de su ingreso al ciclo de los ácidos tricarboxílicos, ocasionando la disminución de la β -oxidación de ácidos grasos, aumentando su síntesis (lipogénesis) y la de α - glicerofosfato sintetizando triglicéridos y produciendo hígado graso e hipoglicemia por inhibición de la gluconeogénesis y del consumo de glucógeno, y consecuentemente el favorecimiento de la acción de la xantina oxidasa, la cual oxida hipoxantina a xantina y ésta a ácido úrico generando su acumulación ^(21, 24, 25).

El segundo mecanismo, es el Sistema Microsomal de Oxidación de Etanol (MEOS), localizado en el retículo endoplásmico liso del hepatocito, el cual resulta la principal ruta de uso en la ingesta crónica de alcohol cuando la capacidad de la ADH se encuentra al tope. Asimismo, la isoforma 2E1 del citocromo CYP450, es la fracción que produce un exceso de radicales libres (O_2^- , H_2O_2 , y OH^-) tras su hipertrofia ⁽²⁴⁾.

El tercer y último mecanismo de oxidación del alcohol es por medio de la enzima catalasa localizada en las mitocondrias y peroxisomas de los hepatocitos, siendo

mínimo su papel en la oxidación del etanol debido a que es limitada por la disponibilidad del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) ⁽²¹⁾. Finalmente, tras la formación de acetato por alguno de estos mecanismos, el acetato ingresa al ciclo de Krebs en forma de acetil coenzima A, para ser metabolizado a CO_2 y agua ⁽²²⁾.

Dentro del daño hepático en la morfología, encontramos modificaciones histológicas a nivel de la tercera zona del lobulillo, en donde se ubica a un mayor número de enzimas que participan en la biodegradación hepática del alcohol. En primer lugar, el alcohol provoca la acumulación de grasa parcial en pequeñas vacuolas, que al unirse forman otras más grandes desplazando el núcleo y otras organelas celulares, provocando el rompimiento de la membrana y produciendo lipogranulomas. En la Hepatitis Alcohólica, las alteraciones morfológicas y las manifestaciones clínicas son más severas, evidenciándose coexistencia de degeneración y necrosis celular; mientras que, en el estadio de cirrosis hepática, la arquitectura es reemplazada por proteínas estructurales como el colágeno que envuelve a los nódulos de regeneración provocando infiltración grasa, creación de cuerpos de Mallory, necrosis hialina esclerosante y otras lesiones ⁽²²⁾.

Tras la alteración fisiológica, histológica y bioquímica por la ingesta continua del alcohol, a nivel molecular el metabolismo hepatocitario produce un exceso de radicales y una disminución de los antioxidantes, conllevando a una alteración radicalaria o estrés oxidativo ⁽²⁶⁾.

Los radicales libres (RL) son moléculas con electrones desapareados en su último orbital, cuya presencia afecta la conformación del ADN y proteínas. Además, ocasionan un incremento de la lipoperoxidación causando daño mitocondrial y muerte celular. Los aldehídos como malonildialdehído y 4-hidroxinonenal formados durante este proceso al igual que el Ach, estimulan al sistema inmune y activan la producción de quimiocinas pro inflamatorias por las células de Küpffer. Entre las más importantes destaca el $TNF-\alpha$, quién desempeña un papel fundamental en la fisiopatología de la HPA al inducir muerte celular programada y necrosis ^(27, 28).

El sistema de defensa antioxidante presenta componentes variados, entre los más importantes se encuentran a los antioxidantes enzimáticos como la superóxido dismutasa y la catalasa quienes eliminan a los radicales libres oxigenados (EROS) ⁽²⁹⁾.

Las superóxidos dismutasas (SOD) son una familia de enzimas divididas en 2 grupos genéticos diferentes: las Cu/Zn-SOD y las Fe/Mn-SOD. Estos dos isoformas permiten la dismutación del anión superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno (O_2), y aunque si bien es cierto el O_2^- puede dismutarse espontáneamente a O_2 y H_2O_2 rápidamente, la SOD cataliza la reacción de dismutación siete veces más rápido,

hecho que garantiza su eficiencia y la eliminación del radical ⁽²⁹⁾.

La catalasa es la otra enzima primaria que participa en la neutralización de radicales. Se trata de una hemoproteína que se concentra en las mitocondrias y en los peroxisomas, y se encarga de catalizar conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno a nivel de diferentes tejidos, presentando dos funciones fundamentales, una catalítica y otra peroxidativa ⁽³⁰⁾.

En el otro lado de la respuesta antioxidante, encontramos a los antioxidantes de tipo no enzimático, los cuales son un conjunto de moléculas tanto hidrófobas como hidrofílicas que capturan radicales libres y agregan un electrón con el objetivo de estabilizar una molécula y generar sustancias menos nocivas ⁽²⁹⁾.

El glutatión (GSH) es un antioxidante no enzimático, que se encuentra presente en todos los órganos y tejidos, y en concentraciones elevadas a nivel hepático. Es un tripéptido soluble formado a partir glutamato, cisteína y glicina que está relacionado con la función de purificación y eliminación de xenobióticos. La concentración total de glutatión (GSH-total) depende de la suma del glutatión libre y la fracción de glutatión unida a proteínas. La fracción libre unida a un tiol reducido es llamada glutatión reducido (GSH-red) y la forma oxidada o disulfuro es llamada glutatión oxidado (GSSG), siendo la GSH-red la forma activa de la molécula y la más abundante. El glutatión presenta una interacción sinérgica con otros elementos antioxidantes como la vitamina E, la vitamina C y las SOD. Actúa como atrapador de radicales hidroxilos y oxígeno simple y presenta una elevada capacidad de reactivación de enzimas expuestas a altas concentraciones de oxígeno ⁽³¹⁾.

En la actualidad, debido a los altos costos socioeconómicos generados por el tratamiento de las enfermedades hepáticas, la ingesta de alimentos con actividad terapéutica o preventiva y de bajo costo, posibilitan la mejora de las condiciones de vida, y de salud del paciente ⁽³¹⁾. Las investigaciones señalan, que los tratamientos antioxidantes con una ingesta elevada de alimentos de origen vegetal y que favorezcan la generación de glutatión, vitamina E, vitamina C y agentes polifenólicos, mejoran la calidad de vida de pacientes con enfermedad hepática alcohólica disminuyendo el riesgo de padecer otras complicaciones crónicas degenerativas ^(32, 33, 34), siendo aquí el contexto oportuno en donde el término “Alimento Funcional” toma importancia.

Según The International Life Science Institute (ILSI), “un alimento es funcional si demuestra un resultado beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de tal modo que resulte apropiado para mejorar el estado de salud, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas” ⁽³⁵⁾.

El mango (*Mangifera indica*) pertenece a este grupo de alimentos funcionales. Es una planta originaria del sureste de Asia perteneciente a la familia de las Anacardiaceae. Ha sido cultivada desde hace aproximadamente 4,000 años, esparciéndose a lo largo de la historia hacia los países tropicales y subtropicales de América latina, estando conformada por aproximadamente 50 especies, de las cuales sólo 3 o 4 producen frutos comestibles ⁽³⁶⁾. Su árbol, de tamaño mediano a grande, crece típicamente a una altura de 25m en forma de copa redonda y densa, con hojas verde oscuro lanceoladas y ásperas, y un tronco robusto de corteza gruesa y rugosa ⁽³⁷⁾. Su fruto presenta un exocarpo que puede ser verde, amarillo, rosa, rojo y violeta; un mesocarpo comestible y una semilla de forma ovoide, oblonga, alargada, recubierta por un endocarpo grueso y leñoso con una capa externa de apariencia fibrosa al que están adheridas muchas fibras ⁽³⁸⁾. En algunos climas puede alcanzar un tamaño definitivo en siete semanas y ser cosechados a la semana doce o trece con un peso de 100g a 1500g ⁽³⁹⁾. Dentro de sus características morfológicas, la cáscara representa el 7-24%, la semilla el 10-25% y la pulpa el 40-65% del peso del mango ^(40, 41).

En los últimos veinte años, las exportaciones peruanas han mostrado un comportamiento muy activo, en tal sentido, el Perú se ha constituido en el cuarto país exportador de mango más importante en el mercado mundial, desplazando a Brasil, y se espera que al 2021 se pueda igualar el volumen exportado por Tailandia y la India ⁽⁴²⁾. En el 2015, el INEI dio a conocer que la producción de mango fue de 118 000 toneladas y que se había evidenciado un aumento de un 64,8% respecto al año anterior, resultado que puede ser explicado debido al incremento de la producción en diferentes regiones como Piura (159,8%), Ica (110,7%), Áncash (12,6%) y Lima (7,9%), las cuales representaron el 80,1% de la producción total de mango ⁽⁴³⁾.

Durante el procesamiento del mango por las grandes plantas comerciales tras su cosecha, se ha reportado una alta tasa de excreción de subproductos como la cáscara y semilla, perjudicando nuestro medio ambiente y agravando el grado de contaminación presente en nuestro país; sin embargo, estos subproductos podrían ser reciclados y utilizados en algún producto alimenticio o aditivo, disminuyendo la tasa de contaminación por las agroindustrias ^(44, 45).

Se conoce que la cáscara de mango presenta un alto contenido de polifenoles mayor respecto a su pulpa, hecho que podría aprovecharse en la prevención de diferentes enfermedades con alta prevalencia ^(44, 46, 47). La cáscara de mango presenta un alto contenido de sustancias funcionales, entre ellos, los compuestos fenólicos ya mencionados como la mangiferina, kaempferol, quercetina, antocianinas, ácido gálico, ácido protocatéquico, ácido ferúlico, ácido sirínico y ácido 2-hidroxicinámico. Además

de Vitamina C, minerales (potasio, cobre, zinc, magnesio, hierro y selenio); fibra dietética soluble e insoluble (celulosa, hemicelulosa y pectina), carotenoides y terpenos (limoneno, β -pineno, α -pineno, β -mirceno, cis cimeno, trans cimeno, terpineno, α -guaianeno, campeno y fencheno), que han sido relacionados con sus propiedades nutraceuticas, funcionales y antioxidantes ^(40, 44, 45, 47, 48,49).

La cáscara del mango, resulta en una inmejorable fuente de fibra, y el consumo tanto de esta como de la pulpa, podría presentar más beneficios que el consumo solo de la pulpa mínimamente procesada ⁽⁵⁰⁾. Las cáscaras de las distintas variedades de mango presentan una concentración significativa de pectina de alta calidad, que por su alto grado de esterificación, su importante concentración de ácido galacturónico ^(51,52) y su equilibrio entre fibra soluble (29%) e insoluble (27%) ⁽⁵³⁾, han demostrado tener diversos efectos favorables en la salud humana, entre ellos jugar un rol hipoglucemiante, hipocolesterolémico e hipotrigliceridémico ⁽⁵⁴⁾.

En un estudio, respecto a la actividad funcional y antiproliferativa de la pulpa y la cáscara de mango (*Mangifera indica* L.) sobre el daño oxidativo inducido por H₂O₂ en una línea celular de hepatoma humano, se evidenció que el extracto de cáscara mostró un efecto antiproliferativo significativo contra todas las líneas celulares de cáncer en comparación con el extracto de la pulpa de manera dependiente a la dosis. Asimismo, la función antiproliferativa de los extractos de pulpa y cáscara de mango se correlacionaban con sus contenidos fenólicos y flavonoides ^(49,55), siendo las variedades Haden y Ataulfo las de mayor actividad quimiopreventiva asociadas a un aumento en la expresión de ARNm de biomarcadores pro-apoptóticos y reguladores del ciclo celular, detención del ciclo celular y una disminución en la generación de EROS ⁽⁵⁶⁾.

En otras investigaciones en donde se buscó relacionar a los compuestos fenólicos de la cáscara y el cáncer de próstata, colon y pulmón, se encontró que estos presentan un efecto anticancerígeno debido a que inducen la apoptosis, cambios en la morfología celular y pérdida de la viabilidad neoplásica en relación a la dosis administrada. Asimismo, la cáscara de mango presentó actividad antiobesogénica debido a que reguló el metabolismo de los lípidos y carbohidratos ⁽⁵⁰⁾.

Por todo lo anteriormente expuesto, no existen estudios que relacionen la administración de cáscara del *Mangifera indica* H. (mango), con el efecto a nivel hepático frente al daño inducido por la ingesta de etanol al 5%; planteándose así, según los argumentos mencionados, el desarrollo y aplicación de la presente investigación.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

La ingesta del pulverizado de cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) presenta efecto hepatoprotector frente a la toxicidad inducida por etanol en ratones.

3.2. Objetivos

3.2.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto del pulverizado de cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones.

3.2.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto del pulverizado de cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) sobre la morfología del tejido hepático inducido a toxicidad por etanol en ratones.
- Evaluar el efecto del pulverizado de cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) sobre los marcadores bioquímicos en tejido hepático inducido a toxicidad por etanol en ratones.

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

Experimental de tipo experimental puro con postprueba y un grupo control (Hernández, 2014) ⁽⁵⁷⁾.

3.2. Muestra

3.2.1. Unidad de análisis

Ratones albinos (*Mus musculus*) BALB/c machos, con tres meses de edad y un peso de $30,325 \pm 13,410$.

3.2.2. Tamaño de muestra

35 ratones albinos distribuidos de manera aleatoria en cinco grupos (n=7).

3.3. Variables

3.3.1. Variable independiente

- **Pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango):**

“Es el pulverizado de la cáscara, que es la epidermis o exocarpo exterior del ovario del envés de la hoja carpelar del pistilo, que puede ser liso y seroso, con cavidades oleíferas lisígenas, aguijones, expansiones membranosas con surcos o verrugas de diferente color y consistencia” (López, 2016) ⁽⁵⁸⁾.

3.3.2. Variable dependiente

- **Efecto hepatoprotector**

“Es la protección del hígado frente a la variación de las defensas antirradicalarios del organismo por efectos nocivos de xenobióticos” (Hevia, 2007) ⁽⁵⁹⁾.

3.4. Operacionalización de variables

Variable	Definición Conceptual	Dimensión	Indicadores	Categoría / Punto de corte	Escala de medida
Variable Independiente Pulverizado de la cáscara del <i>Mangifera indica</i> H. (mango)	“Es el pulverizado de la cáscara, que es la epidermis o exocarpo exterior del ovario del envés de la hoja carpelar del pistilo, que puede ser liso y seroso, con cavidades oleíferas lisígenas, aguijones, expansiones membranosas con surcos o verrugas o de diferente color y consistencia” (López J, 2016).	---	Administración de la suspensión de la cáscara del <i>Mangifera indica</i> H. (mango)	<ul style="list-style-type: none"> 100 mg/kg 900 mg/kg 	Ordinal
Variable Dependiente Efecto hepatoprotector	“Es la protección del hígado frente a la variación de las defensas antirradicalarios del organismo por efectos nocivos de xenobióticos” (Hevia, 2007).	Morfológica	<ul style="list-style-type: none"> Descripción Histológica 	Comparado con los grupos controles	Nominal
			<ul style="list-style-type: none"> % de variación del Índice Hepático (IH) 		Razón
		Bioquímica	<ul style="list-style-type: none"> % de variación de lipoperoxidación % de variación del GSH total % de variación del GSH % de variación de GSH/GSSG % de variación de la actividad SOD % de variación de la actividad CAT Relación SOD/CAT 		Razón

3.5. Materiales

3.5.1. Materiales biológicos

- Ratones machos albinos (*Mus musculus*, cepa BALB/c)
- Cáscaras del *Mangifera indica* H. (mango)

3.5.2. Reactivos y fármacos

- Etanol absoluto (Spectrum®)
- Ácido etildiaminotetraacético (EDTA) (Triplite®)
- Ácido 2-tiobarbitúrico (Merck)
- Ácido tricloroacético (Scharlaw)
- Ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrato (DTNB)
- Silimarina 70mg, Genfar
- Pentobarbital (Halatal®)
- Pentobarbital Sódico, Monata S.A
- Ácido tricloroacético (TCA), Mallinckrodt AR
- Ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), Merck KGaA

3.5.3. Equipos e instrumentos

- Homogenizador marca: Ultra-Turrax; modelo: IKA-T10BASIC
- Centrífuga marca: GREETMED; modelo: GTT119-300
- Espectrofotómetro marca: GREETMED; modelo: NV-203
- Balanza electrónica RADWAG; modelo WTB-200
- Estufa marca: Unic's WS-50
- Baño María marca: AVALIER; modelo: VL-32

3.6. Recolección de la muestra

3.6.1. Forma de Adquisición de la cáscara de mango

Las muestras fueron recolectadas en el mercado mayorista “Tres Regiones” del distrito de Carabaylo, Lima-Perú en noviembre del 2018 (ver ANEXO I). Asimismo, para la confirmación de la variedad del fruto, fue llevada una muestra de mango al Museo de Historia Natural de la UNMSM (ver ANEXO V).

3.6.2. Obtención y preparación de la suspensión de la cáscara de mango

Las frutas fueron seleccionadas, lavadas y cortadas para el posterior descarte del contenido comestible con previo raspado de la cáscara. Las cáscaras de mango limpias fueron colocadas sobre una fuente de vidrio Pírex, la cual fue llevada a una estufa a temperatura de 40° C por 72 horas para luego ser pulverizadas manualmente. El pulverizado obtenido fue cernido tres veces hasta obtener un polvo más fino, el cual fue conservado en un frasco de color caramelo con cierre hermético. Finalmente, el polvo obtenido fue pesado y separado en diferentes envases para luego ser suspendido en un sistema coloidal de fécula de maíz (almidón) al 1%. Esta suspensión fue preparada al momento de la administración, cada día de tratamiento como vehículo para las dosis de 100 mg/kg y 900 mg/kg.

3.7. Acondicionamiento de la unidad de análisis

Los ratones albinos *Mus musculus* de cepa BALB/c fueron adquiridos en el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud (CNPB/INS), los cuales tuvieron un periodo de aclimatación de cinco días en jaulas provistas de rejillas metálicas en un ambiente controlado a temperatura de 20°C con periodos de 12 horas de luz oscuridad cada uno, teniendo disponibilidad de alimento balanceado y agua *ad libitum* las 24 horas del día. El alimento fue adquirido en el Centro de Producción de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM); asimismo, dichos animales fueron aleatoriamente distribuidos en cinco grupos de siete ratones cada uno (n=7).

3.8. Método de inducción a hepatotoxicidad

Se aplicó el método de inducción a daño hepático por etanol utilizado por Sandoval, et al (2008) ⁽⁶⁰⁾. El etanol fue preparado a una concentración del 5% en solución glucosada al 5% y colocado en los bebederos para consumo *ad libitum* en los grupos II al V. Asimismo, los grupos mencionados recibieron el tratamiento por cinco

días vía peroral a las 9:00 a.m. En horas de la tarde (4:00 p.m.) se les administró la suspensión en fécula de almidón al 1% a todos los grupos según Tabla 1 (ver ANEXO IV).

Tabla 1: Distribución y tratamiento para evaluar la protección hepática

Grupos	Intervención Día 1 al 5
I	Suspensión de almidón al 1% (vehículo)
II	Etanol en bebedero + Suspensión de almidón al 1% vía peroral
III	Etanol en bebedero + Silimarina 70 mg/kg en suspensión de almidón al 1% vía peroral
IV	Etanol en bebedero + Cáscara de mango 100 mg/kg en suspensión de almidón al 1% vía peroral
V	Etanol en bebedero +Cáscara de mango 900 mg/kg en suspensión de almidón al 1% vía peroral

Concluido el periodo de inducción, se les mantuvo en ayuno de 12 horas para luego ser anestesiados con pentobarbital sódico (0,3 mg/kg) y posterior laparotomía incisional abierta. En la cirugía, se localizó el ligamento redondo mayor del hígado y se extrajo el órgano, cortando los ligamentos y adherencias secundarias. El órgano extraído fue lavado en solución NaCl 0,9% y secado con papel absorbente para su posterior pesado en una balanza analítica. Finalmente, se seccionó el lóbulo hepático mayor en dos porciones de 0,25 g cada una, la primera porción fue utilizada para la preparación del homogenizado, en el cual se determinó los indicadores bioquímicos respectivos y la segunda porción obtenida fue conservada en formol al 10% tamponado con pH 7,4 y a 0,75 mol/L para el estudio histológico.

3.9. Preparación del homogenizado

Para la preparación del homogenizado se utilizó 0,25 g del lóbulo mayor del hígado y se homogenizó con buffer fosfato a pH 7,4 y a 0.01mol/L hasta un volumen final de 2,5 mL. Todo el procedimiento se llevó a cabo sobre planchas de gel helado a una temperatura aproximada de 4°C. La mezcla obtenida fue llevada a centrifugación a 2500 rpm por un periodo de cinco minutos para posterior obtención y trabajo del sobrenadante del homogenizado.

3.10. Procesamiento de los indicadores bioquímicos

3.10.1. Determinación de la Lipoperoxidación

Fue determinada según la técnica de Buege y Ust (1978) ⁽⁶¹⁾ y modificado por Suárez (1995) ⁽⁶²⁾. Además, se calculó el % de variación de la lipoperoxidación mediante la siguiente fórmula para enfatizar en la dimensión de la lesión generada por el alcohol:

$$\% \text{ de variación de Lipoperoxidación} = \frac{\text{Variación TTO} - \text{Variación G II}}{\text{Variación G II}} \times 100$$

3.10.2. Determinación de Glutation (GSH)

Para la determinación de la actividad del Glutation reducido y total, se empleó la técnica de Boyne y Ellman (1972) ⁽⁶³⁾. Además, se calculó el % de variación de la actividad del mediante los siguientes protocolos y las siguientes fórmulas:

Protocolo para GSH reducido:

Se colocó 950 µL de SNH con 50 µL de TCA 100% en un tubo eppendorf, se agitó energéticamente y se llevó a centrifugar a 13 000 rpm por 5 minutos. Luego se cogió 0,3 mL del sobrenadante y se colocó 1,5 mL buffer fosfato pH 6,8 a 0,5 mol/L para luego ser llevado a baño María a 67°C por 5 minutos, luego se retiró y se dejó enfriar. Se agregó 0,3 mL de DTNB a una concentración de 1,5 mg/mL en buffer fosfato 0,5 mol/L pH 6,8. Transcurrido 5 minutos se leyó la absorbancia a 412 nm.

Protocolo para GSH total:

Luego se cogió 0,3 mL del sobrenadante y se colocó 1,5 mL de buffer fosfato pH 6,8 a 0,5 mol/L y se llevó a baño María a 67°C por 5 minutos, luego se retiró y se dejó enfriar. Se agregó 0,3 mL de DTNB de una concentración de 1,5 mg/mL en buffer fosfato 0,5 mol/L pH 6,8 con ácido ascórbico y ácido glioxílico (20 mg de ácido ascórbico / 10 mg de ácido glioxílico / mL de buffer fosfato), transcurrido 5 minutos se leyó a una absorbancia de 412 nm.

$$\% \text{ de variación de GSH} = \frac{\text{U GLUT GTTO} - \text{U GLUT G2}}{\text{U GLUT G2}} \times 100$$

U GLUT G2 : Unidades de GLUT del grupo II

U GLUT GTTO : Unidades de GLUT del grupo tratamiento

3.10.3. Determinación de Superóxido Dismutasa (SOD)

Se empleó el método de Marklund y Marklund (1974) ⁽⁶⁴⁾. Además, se calculó el % de variación de la actividad de la enzima mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de variación de SOD} = \frac{U \text{ SOD GTTO} - U \text{ SOD G2}}{U \text{ SOD G2}} \times 100$$

U SOD G2 : Unidades de SOD del grupo II

U SOD GTTO : Unidades de SOD del grupo tratamiento

3.10.4. Determinación de Catalasa (CAT)

Se utilizó la técnica de Aebi (1947) ⁽⁶⁵⁾. Además, se calculó el % de variación de la actividad de la enzima superóxido dismutasa mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de variación de CAT} = \frac{U \text{ CAT GTTO} - U \text{ CAT G2}}{U \text{ CAT G2}} \times 100$$

U CAT G2 : Unidades de CAT del grupo II

U CAT GTTO : Unidades de CAT del grupo tratamiento

3.11. Procesamiento de los indicadores morfológicos

3.11.1. Determinación del Índice hepático:

Este indicador fue determinado mediante el cociente entre el peso del tejido respecto al peso de la masa corporal del ratón. Además, se expresó como porcentaje de variación del índice hepático con las siguientes fórmulas:

$$\text{Índice hepático} = \frac{W \text{ hígado}}{W \text{ animal}} \times 100$$

w : Peso del hígado

w : Peso del animal

$$\% \text{ de variación del índice hepático} = \frac{\text{IH G2} - \text{IH GTTO}}{\text{IH G2}} \times 100$$

IH G2 : Índice hepático en el grupo II

IH GTTO : Índice hepático en el grupo tratamiento

3.11.2. Descripción histológica:

Las muestras fueron procesadas en el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de la Morgue Central de Lima con tinción hematoxilina-eosina para su posterior análisis por el médico patólogo.

La descripción histológica incluyó las hepático columnas de hepatocitos, vasos sanguíneos, conductos biliares, células de Kúpffer, componente inflamatorio y presencia de polimorfonucleares, lobulillo clásico, lobulillo portal, acino hepático, vena centrolobulillar y espacios portales.

3.12. Análisis Estadístico

Los datos encontrados fueron registrados y ordenados en MS-Excel 2013. Luego fueron utilizados por medio del programa estadístico SPSS 20 para la aplicación de los estadísticos descriptivos como la media o promedio aritmético, la desviación estándar, el rango intercuartílico y la variación porcentual. Se aplicó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk. Para las pruebas paramétricas se usó al Análisis de Varianza (ANOVA), y para las no paramétricas el Test de Kruskal-Wallis. La prueba *pos hoc* utilizada para ANOVA fue la prueba de Tukey y para Kruskal-Wallis la prueba U de Mann Whitney.

3.13. Consideraciones éticas

Se consideró a la Ley Peruana N° 30407 “De la protección y bienestar a los animales” que en su artículo 19 señala lo siguiente: “de la experimentación e investigación y la docencia, en donde se permite la experimentación para el estudio y el avance de la ciencia, cuando el mismo resulte necesario para el tratamiento de enfermedades que afecten tanto al hombre como a los animales y siempre que no se afecte la naturaleza del experimento o investigación, y se establezcan procedimientos que mitiguen el sufrimiento del animal ” ⁽⁶⁶⁾. Además, se cumplieron con dos de los tres principios de la experimentación con los animales, propuesta por Russell y Burch: Reducir y Refinar ⁽⁶⁷⁾.

IV. RESULTADOS

4.1. Del análisis estadístico

Se aplicó la prueba de normalidad a todos los indicadores, de los cuáles los indicadores bioquímicos GSH total, SOD, CAT y la relación SOD/CAT tuvieron una distribución normal siendo la prueba ANOVA y Tukey los estadísticos adecuados. Por otro lado, los indicadores GSH reducido, lipoperoxidación y la relación GSH/GSSG no presentaron una distribución normal, razón por la cual se utilizó el Test de Kruskal-Wallis para el análisis estadístico siendo su prueba pos hoc la U de Mann Whitney.

4.2. Niveles de lipoperoxidación en tejido hepático

El consumo de etanol al 5% (Grupo II), presentó mayor nivel de lipoperoxidación expresado en TBARS respecto al grupo I ($p < 0,01$). Asimismo, el grupo III administrado con Silimarina más etanol al 5% presentó un menor nivel de lipoperoxidación comparado con el grupo II ($p < 0,01$). Respecto a la administración de cáscara de mango a dosis de 100 mg/kg y 900 mg/kg en los grupos IV y V respectivamente, se encontró un menor nivel de lipoperoxidación comparado con grupo II de manera significativa, siendo la dosis alta de 900 mg/kg la que demostró un mayor porcentaje de inhibición (68,32%), seguida por el grupo administrado con Silimarina (67,03%) y el grupo con dosis experimental baja (60,99%).

Tabla 2: Niveles de lipoperoxidación en homogenizado hepático según grupo de tratamiento

Grupo de tratamiento	Lipoperoxidación* nmol/g de tejido	% de inhibición**
Grupo I	94,71 \pm 22,69 ^(a)	43,07
Grupo II	166,35 \pm 53,40	--
Grupo III	54,84 \pm 17,58 ^(a)	67,03
Grupo IV	64,90 \pm 19,75 ^(a)	60,99
Grupo V	52,70 \pm 9,08 ^(a)	68,32

*Shapiro Wilk - Kruskal- Wallis (Mediana \pm RIQ)

**Comparado con el grupo II

(a) $p < 0.01$ comparado con el grupo II

4.4. Perfil de GSH en tejido hepático

En cuanto a la concentración de glutatión encontrado en el tejido hepático en los diferentes grupos, se observó que la administración de etanol al 5% en el grupo II mostró menores valores en los niveles de GSH total, GSH reducido y en la relación GSH/GSSG respecto al grupo I, siendo esta diferencia no significativa en los tres indicadores mencionados. Además, el grupo administrado con Silimarina (grupo III) presentó mayores valores en el indicador GSH total ($p < 0,05$) y en la relación GSH/GSSG ($p < 0,01$) respecto al grupo II. Asimismo, si bien se observa un incremento del grupo III en los valores de GSH reducido, este incremento no fue significativo.

En cuanto a los grupos experimentales, se evidenció que los grupos administrados con dosis baja y alta tuvieron menores valores en los indicadores GSH reducido y GSH total respecto al grupo II, sin embargo, esta diferencia no tuvo valor significativo. Asimismo, el grupo V mostró un mayor porcentaje de incremento en la relación GSH/GSSG respecto al grupo II y grupo IV de manera no significativa, sin embargo, se pone en evidencia una tendencia ascendente dosis dependiente.

Tabla 3. Niveles de GSH reducido, GSH total y GSH reducido/oxidado según grupo de tratamiento

GRUPO	GSH reducido*		GSH total**		GSH/GSSG*	
	$\mu\text{mol/g}$	% incremento	$\mu\text{mol/g}$	% incremento	$\mu\text{mol/g}$	% incremento
Grupo I	609,90 \pm 221,27	45,05	1014,92 \pm 240,64	14,06	1,27 \pm 0,71	30,93
Grupo II	420,47 \pm 179,14,32	--	889,81 \pm 149,73	--	0,97 \pm 0,17	--
Grupo III	651,01 \pm 138,40	54,82	1194,62 \pm 249,47 ^(a)	34,26	1,31 \pm 0,37 ^(b)	35,05 ^(b)
Grupo IV	318,32 \pm 98,17	-24,29	815,44 \pm 152,56	-8,36	0,75 \pm 0,11	-22,68
Grupo V	309,13 \pm 120,92	-26,47	679,27 \pm 59,67	-23,66	1,04 \pm 0,40	7,22

* Kruskal Wallis (Mediana \pm RIQ)

** ANOVA (Media \pm DE)

(a) $p < 0,05$ comprado con el grupo II

(b) $p < 0,01$ comprado con el grupo II

4.5. Niveles de SOD y CAT en tejido hepático

El consumo de etanol al 5% en el grupo II presentó un menor nivel de expresión de la enzima superóxido dismutasa respecto al grupo I; sin embargo, esta diferencia no tuvo valor de significancia. Asimismo, el grupo con Silimarina más etanol al 5% presentó un menor nivel de expresión de SOD, pero esta diferencia tampoco fue significativa comparada con el grupo II.

Respecto a los grupos experimentales, ambos grupos presentaron menores niveles de expresión de la SOD respecto al grupo II, pero solo el grupo con dosis alta (grupo V) tuvo diferencia significativa ($p < 0.05$). Por otro lado, en el indicador catalasa, el consumo de etanol al 5% por el grupo II no presentó diferencia significativa respecto a ningún grupo.

Finalmente, respecto a la relación SOD/CAT, el grupo II presentó mayor nivel de expresión en la relación SOD/CAT respecto a todos los grupos. El tratamiento con Silimarina más etanol al 5% (grupo III) presentó menor nivel en la relación SOD/CAT de manera significativa comparado con el grupo II ($p < 0.05$). Además, la administración de cáscara de mango a dosis de 100 mg/kg (grupo IV) y 900 mg/kg (grupo V), también mostraron menores valores respecto al grupo II de manera significativa con un ($p < 0.05$) y ($p < 0.01$) respectivamente. Asimismo, se encontró una diferencia significativa entre los valores de la relación SOD/CAT entre los grupos experimentales a diferentes dosis de investigación, siendo el grupo IV el de menor relación SOD/CAT.

Tabla 4. Niveles de SOD, CAT y relación SOD/CAT según grupo de tratamiento

GRUPO	SOD*	CAT*	SOD/CAT*
	U /mg de tejido	$\mu\text{mol/min/g}$	
Grupo I	$8,37 \pm 1,11$	$0,22 \pm 0,03$	$38,22 \pm 1,36$
Grupo II	$8,56 \pm 0,44$	$0,22 \pm 0,01$	$39,66 \pm 1,57$
Grupo III	$7,87 \pm 0,82$	$0,22 \pm 0,02$	$36,33 \pm 1,10^{(a)}$
Grupo IV	$7,48 \pm 0,63^{(a)}$	$0,21 \pm 0,01$	$35,13 \pm 0,99^{(a)}$
Grupo V	$6,87 \pm 0,57^{(a)}$	$0,20 \pm 0,02$	$33,78 \pm 0,91^{(a)}$

* ANOVA (Media \pm DE)

(a) $p < 0,01$ respecto al grupo II

4.6. Índice Hepático

El consumo de etanol al 5% por parte del grupo II aumentó el tamaño del hígado, expresado en el índice hepático respecto al grupo I; sin embargo, este incremento no tuvo valor significativo.

Por otro lado, la administración de Silimarina más etanol en el grupo III disminuyó el tamaño del hígado respecto al grupo II, pero esta diferencia tampoco fue significativa. En el caso de la administración de la cáscara de mango a dosis experimentales de 100 mg/kg y 900 mg/kg, se evidenció menor nivel de expresión del índice hepático respecto al grupo II de manera significativa ($p<0,01$) y ($p<0,05$) respectivamente. Además, se observó que el grupo administrado con dosis baja de 100mg/kg fue el que expresó mayor porcentaje de inhibición del índice hepático (21,68%) comparado con todos los grupos de investigación, siendo su valor de Índice hepático el más bajo.

Tabla 5: Índice de daño hepático según grupo de tratamiento

Grupo de tratamiento	Índice Hepático*	% de inhibición **
Grupo I	4.55 \pm 0.44	11.13
Grupo II	5.12 \pm 0.44	--
Grupo III	4.73 \pm 0.34	7.62
Grupo IV	4.01 \pm 0.32 ^(b)	21.68
Grupo V	4.40 \pm 0.17 ^(a)	14.06

*ANOVA (Media \pm DE)

**Comparado con el grupo II

(a) $p<0,05$ comparado con el grupo II

(b) $p<0.01$ comparado con el grupo II

4.7. Descripción Histológica

Grupo I: Las muestras presentaron una estructura ligeramente alterada, con columnas de hepatocitos distribuidos linealmente, y algunas con leve distorsión. Algunos hepatocitos presentaron binucleación y macronúcleos. Los vasos sanguíneos mostraron congestión y algunos otros estasis venosa. En el espacio de la triada portal se observó edema intersticial con presencia de uno a tres conductos biliares, y el espacio de la vena centrolobulillar ligeramente aumentada. Las células de Küpffer presentaron una buena distribución, y con ligero aumento en algunos espacios sinusoidales. También se encontró linfocitos, escasos polimorfonucleares y algunos eosinófilos. El lobulillo hepático clásico presentó ligera distorsión, mientras que el lobulillo portal se observó conservado. Finalmente, el acino hepático se encontró ligeramente disminuido. Hepatitis tóxica leve.

Grupo II: Las columnas de hepatocitos presentaron distorsión arquitectural con áreas de necrosis multifocal y microesteatosis. Los vasos sanguíneos presentaron ligera congestión a nivel del componente venoso. Además, se encontró al espacio portal ligeramente disminuido con presencia de un conducto biliar ligeramente colapsado y la vena centrolobulillar disminuida. Por otro lado, las células de Küpffer se mostraron bien distribuidas, con presencia de infiltrado linfocitario en las columnas de hepatocitos, los eosinófilos se observaron en la zona 2, zona 3 y en el espacio portal. El lobulillo hepático clásico se encontró totalmente distorsionado, mientras que el lobulillo portal se observó aumentado entre la vena centrolobulillar. Finalmente, el acino hepático se encontró aumentado entre dos venas centrilobulillares por aumento de celularidad de hepatocitos. Hepatitis tóxica severa.

Grupo III: Se observó columnas de hepatocitos no alineados, con áreas hemorrágicas y de necrosis multifocal. Además, a nivel de las triadas portales, se encontró al componente vascular congestivo y el espacio portal aumentado en tamaño y forma debido al componente inflamatorio a predominio de linfocitos con presencia de uno o dos conductos biliares en cada espacio y necrosis en algunas células alrededor de la vena centrolobulillar. Las células de Küpffer se encontraron aumentadas y con presencia abundante de linfocitos sueltos y agrupados, con signos de mitosis y proliferación. El lobulillo hepático clásico se encontró distorsionado en forma y arquitectura, mientras que el lobulillo portal distorsionado solo en forma. Finalmente, el espacio entre las venas centrilobulillares del acino hepático se encontró conservado, pero con presencia de necrosis celular entre ambas. Hepatitis tóxica leve.

Grupo IV: Se encontró a las columnas hepáticas con macronúcleos y cromatina gruesa. Asimismo, a nivel de las triadas portales, se observó al componente vascular levemente congestivo y el espacio portal casi borrado, con presencia de conductos biliares bien conformados y distribuidos, y con hepatocitos con microesteatosis. Además, se observó necrosis multifocal en los hepatocitos alrededor de la vena centrolobulillar. Por otro lado, las células de Küpffer se encontraron aumentadas en número y con buena distribución, y con escaso componente inflamatorio tipo linfocitario. El lobulillo hepático clásico presentó abundantes hepatocitos con binucleación y macronúcleos, mientras que el lobulillo portal presentó infiltrado inflamatorio de eosinófilos en las columnas portales. Finalmente, en el acino hepático se observó sinusoides hepáticos conservados y levemente congestivos. Hepatitis tóxica leve.

Grupo V: Se observó en las columnas de hepatocitos pleomorfismo nuclear y cromatina gruesa, con presencia de microesteatosis bien distribuida. Asimismo, a nivel de las triadas portales, se observó al componente vascular congestivo y el espacio portal conservado, con presencia de conductos biliares bien conformados y distribuidos. A nivel de la vena centrolobulillar se aprecia conservación del lumen venoso con células hepáticas bien estructuradas. Por otro lado, las células de Küpffer se encontraron aumentadas en focos de alto poder con escaso componente inflamatorio y linfocitario a nivel de las triadas portales. El lobulillo hepático clásico presentó algunos hepatocitos con microesteatosis, mientras que a nivel del lobulillo portal se observó regeneración de los hepatocitos a nivel de la zona 2 y zona 3. Finalmente, en el acino hepático se encontró proliferación de células hepáticas con hiperplasia. Hepatitis tóxica leve.

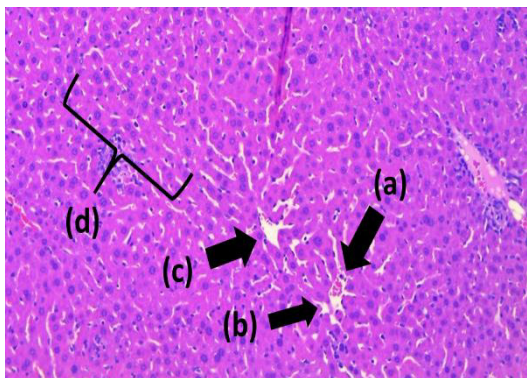


Figura N° 1: Grupo I: (a) vasos sanguíneos congestivos, (b) conductos biliares conservados, (c) vena centrolobulillar conservada, (d) columnas de hepatocitos conservadas. Hepatitis tóxica leve.

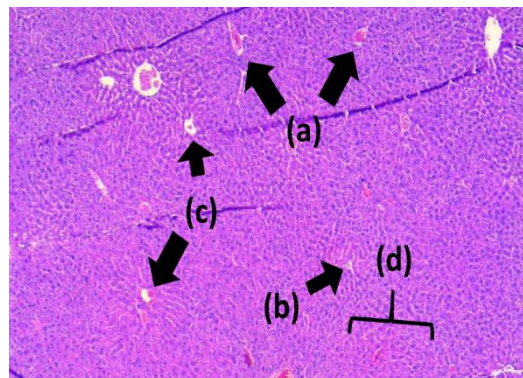


Figura N° 2: Grupo II: (a) vasos sanguíneos congestivos, (b) conductos biliares colapsados, (c) vena centrolobulillar disminuida, (d) columnas de hepatocitos distorsionadas con zonas erosivas. Hepatitis tóxica severa.

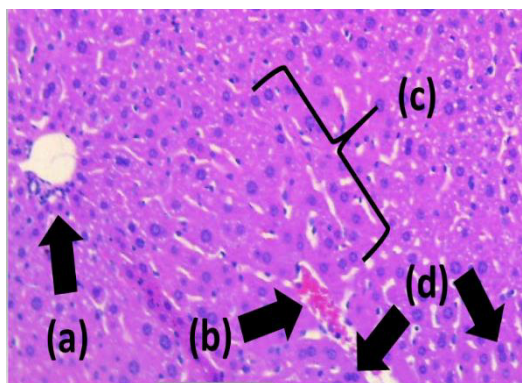


Figura N° 3: Grupo 3: (a) vena centrolobulillar bien conformada, (b) espacio portal congestivo, (c) columna de hepatocitos bien conformada (d) binucleación de hepatocitos. Hepatitis tóxica leve.

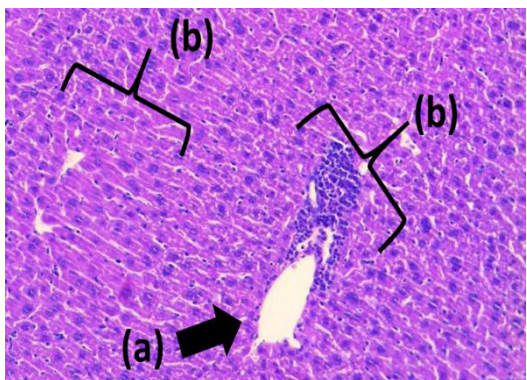


Figura N° 4: Grupo IV: (a) vena centrolobulillar bien conformada, (b) presencia abundante de células de Kupffer. Hepatitis tóxica leve.

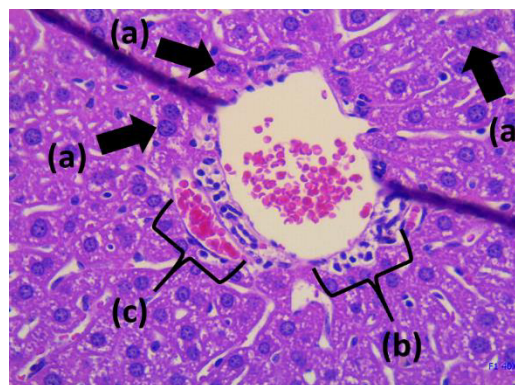


Figura N° 5: Grupo V: (a) binucleación de hepatocitos, (b) células de Kupffer, (c) vena centrolobulillar levemente congestiva. Hepatitis tóxica leve.

V. DISCUSION

En la última década, la comunidad científica y empresarial ha estado invirtiendo su mayor esfuerzo en la investigación de ciertos frutos, que a lo largo de los años y en diferentes culturas, han demostrado tener efectos beneficiosos sobre la salud humana. Es por ello que, con el fin de desarrollar productos más eficaces en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas las enfermedades hepáticas, se ha destinado mayor interés y presupuesto a la investigación de alimentos con actividad funcional ^(68, 69).

A pesar de la necesidad de conseguir agentes protectores contra la exposición a las diversas drogas usadas en nuestro país, entre ellas el alcohol, aún no existen fármacos totalmente eficientes para satisfacer nuestras expectativas, es por ello que la prevención y el consumo de productos vegetales sigue siendo la mejor alternativa. Como consecuencia de ello, se ha despertado mayor atención en la búsqueda de productos de origen natural y orgánico con propiedades hepatoprotectoras, con el fin de desarrollar nuevas formas de prevención y tratamiento, más económicos y con mejores resultados que la medicación convencional a la que está regida el hombre ^(70,71,72).

En nuestro estudio se encontró que, el grupo que recibió etanol al 5% (grupo II) presentó un mayor nivel de incremento en la relación SOD/CAT, lipoperoxidación e índice hepático, con un menor perfil de GSH. Estos resultados están relacionados al efecto de la biodegradación propia del etanol por tres rutas enzimáticas diferentes, la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH), que se encuentra localizada en el citosol celular, el sistema microsomal de oxidación del etanol (MEOS), que tiene como protagonista principal al citocromo p450 (CYP) 2E1 que se encuentra ubicado en la mitocondria, y el sistema de las catalasas (CAT) ubicado en los peroxisomas y mitocondrias, que generan la producción de acetaldehído (AcH) como metabolito intermediario, siendo el sistema MEOS el único capaz de producir ROS, quienes provocan la alteración de diversas estructuras como el PUFA, DNA y proteínas ^(24,73,74).

La principal vía de catabolización del etanol es por medio de la ADH que produce AcH a nivel hepático por transferencia del hidrógeno del grupo OH al cofactor NAD para convertirlo en NADH y luego este, por transhidrogenación puede ser convertido en NADPH ⁽²⁴⁾. El acetaldehído formado resulta 10 a 30 veces más dañino que el etanol, teniendo un efecto mutagénico y teratogénico, y guardando un efecto perjudicial sobre la permeabilidad intestinal, traslocación bacteriana y proteínas intracelulares, generando aductos como AcH-tubulina o AcH-actina, además provoca un incremento en la reducción de oxígeno a radical superóxido. Estos efectos activan el sistema inmune y favorecen la síntesis de factores de inflamación ^(22,23,74). Finalmente, el AcH formado es

metabolizado rápidamente a acetato por medio de enzima mitocondrial acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) ^(22,23,24).

El metabolismo del etanol genera un exceso de NADH, lo que provoca una alteración en la relación NAD/NADH, la que conduce a la inhibición de la oxidación de ácidos grasos y el incremento de la lipogénesis ⁽⁷⁴⁾. Cuando esta relación se altera, modifica el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos en el citoplasma y las mitocondrias, provocando una gluconeogénesis disminuida y un flujo de sustrato limitado hacia el ciclo del ácido cítrico, con el acetil CoA enrutado a la síntesis de ácidos grasos. La inhibición de la β -oxidación de los ácidos grasos inducida por el incremento de NADH a nivel mitocondrial, y combinada con una mayor síntesis de ácidos grasos, contribuye a la patogénesis del hígado graso, la etapa inicial de la enfermedad alcohólica del hígado (ALD) ⁽⁷⁵⁾, el cual podría explicar la aparición de microesteatosis y el incremento del índice hepático en el grupo II.

Por otro lado, el etanol promueve el metabolismo de los lípidos mediante la inhibición del receptor α activado proliferador de peroxisomas (PPAR α) y la adenosina monofosfato quinasa (AMPK), así como la estimulación de la vía de la proteína de unión al elemento regulador de esteroides 1 (SREBP1), la cual promueve la síntesis de ácidos grasos. En combinación, estos efectos dan como resultado una remodelación metabólica hepática que promueve el almacenamiento de grasa y que se manifiesta como una acumulación excesiva de lípidos (triglicéridos) en los hepatocitos ^(74,75), esto podría justificar los hallazgos histológicos y microesteatosis encontrada en el grupo II.

También se ha reportado, que en un inicio el consumo de alcohol permite la permeabilidad intestinal y la translocación de principios inmediatos orgánicos como el lipopolisacárido (LPS) bacteriano al hígado, el cual interactúa con los receptores TLR4 de las células de Küpffer, originando una respuesta que favorece la producción de citoquinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-6, IL-8, TGF β e PFGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) que provocan el incremento del estrés oxidativo (EO) mediante especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS) y que culminan en el daño hepático ^(76, 77), estos eventos pueden estar relacionados a los niveles alto de lipoperoxidación, el número de células de Küpffer y el componente inflamatorio observado a nivel histológico en el grupo II.

Otros aspectos relacionados al proceso inflamatorio observados en el grupo II, podrían estar relacionados a la expresión del citocromo 2E1p450 y el NADPH⁺ oxidasa de los hepatocitos y células de Küpffer. Las ERO generadas por un error en la cadena respiratoria a nivel de los complejos I y III provocan un incremento en los niveles de O₂- y H₂O₂. El deterioro oxidativo ha sido relacionado con la sensibilización proapoptótica

de los hepatocitos por el TNF- α . El O_2^- y H_2O_2 producido por el CYP2E1 y el sistema NADPH⁺ oxidasa, saturan la respuesta de las células de Küpffer a la producción de endotoxinas, al regular el alza de la expresión del receptor Toll-like 4 (TLR-4) y el incremento de la transducción de señales, a través de factores de transcripción, como el factor nuclear kappa-B (NF-Kb), STAT 3, AP-1 y enzimas como las quinasas activadas por señales extracelulares (ERK1/2), quinasas Janus (JAK) y proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) o p38, ocasionando el aumento de citoquinas antiinflamatorias (IL-10 e IL-6). Asimismo, estas ERO a nivel citoplasmático inhiben las vías relacionadas a la hepatoprotección como la vía del AMPK y la del complejo NRF2/ARE ^(76, 78, 79).

Como parte de la respuesta antioxidante, las isoformas SOD 1, 2 y 3, localizadas en el citosol, mitocondrias y la membrana plasmática, respectivamente, conducen a la disminución del O_2^- en H_2O_2 y este a su vez a O_2 y H_2O por dos vías diferentes. La primera, es por medio de la enzima catalasa. La segunda por medio de la enzima GSHPx que utiliza dos moléculas GSH y genera la forma oxidada GSSG, la cual puede ser reducida por medio de la GSHRx utilizando NADPH como cofactor ⁽⁷³⁾. Es en este contexto en donde el GSH toma importancia, el GSH es un antioxidante no enzimático que participa en la homeostasis celular por medio de diferentes funciones, entre ellas, la detoxificación, la regulación del crecimiento y muerte celular, el mantenimiento del balance redox intracelular, el transporte y almacenamiento de cisteína, y por último cumple un rol antioxidante ^(31, 80).

Las funciones asociadas al GSH se ven alteradas frente al consumo de etanol, produciendo una disminución en el nivel de S-adenosilmetionina (SAME) en los hepatocitos y el aumento de metabolitos tóxicos (homocisteína y el S-adenosilhomocisteína (SAH)), provocando la alteración de la expresión de la metionina adenosiltransferasa (MAT), convirtiéndola de MAT1A a MAT2A, y la cual está relacionada a los niveles disminuidos de SAME, GCLC, GST y GSHPx ⁽⁷⁵⁾, desencadenando una disminución de los niveles de GSH por inhibición de la síntesis de por la vía metionina y por su uso en los ERO generados por el acetaldehído y por el CYP2E1, lo cual podría estar relacionado a los niveles bajos encontrados en el perfil de GSH del grupo II.

Finalmente, se encontró que los niveles de la relación SOD/CAT en el grupo II fue el más elevado. Esto podría explicarse debido a que existe un incremento de la expresión de la SOD por la elevada producción de O_2^- tanto a nivel extracelular por la reducción del etanol a acetaldehído, como a nivel intracelular por la activación del CYP2E1 y las vías inflamatorias descritas. Asimismo, el nivel de CAT encontrado podría estar relacionado a una escasa activación del tercer sistema de biodegradación del

etanol en los peroxisomas y mitocondrias, esto podría deberse a que la cantidad de H_2O_2 generado es metabolizado rápidamente por acción del GSH causando su disminución, y que si bien es cierto sus niveles observados fueron bajos en el grupo II por la probable inhibición de su biosíntesis, cabría la posibilidad de que la expresión de la GSHRx, GSHPx y el reciclamiento del GSSG haya sido máximo para poder justificar los resultados encontrados a nivel de la relación SOD/CAT y el perfil de GSH en el grupo II ^(31, 81).

A nivel histológico se reporta en nuestro estudio que el grupo experimental que recibió etanol al 5%, presentó una arquitectura distorsionada a nivel de las columnas de hepatocitos y microesteatosis, con vasos sanguíneos ligeramente congestivos y conductos biliares colapsados. Además, las células de Küpffer se mostraron bien distribuidas y el lobulillo hepático clásico totalmente distorsionado, con presencia de infiltrado linfocitario en las columnas de hepatocitos y eosinófilos en la zona 2, zona 3 y en el espacio portal; estos resultados guardan una estrecha relación con los resultados a nivel histológico encontrados por Flores 2018, en cuya investigación con etanol en ratones describe la presencia de una arquitectura alterada, con congestión de espacios intersticiales con glóbulos rojos y conductos biliares casi obstruidos y destrucción de membrana del espacio de Disse ⁽⁷²⁾. Mani et al 2016, también encontró que, en el grupo administrado con alcohol, se observó infiltración con células inflamatorias, cambios grasos micro y macrovesiculares y triada portal erosionada ⁽⁸³⁾.

Torres 2016 reportó que, los animales de experimentación que recibieron etanol al 5%, mostraron un porcentaje de incremento elevado a nivel del índice hepático (34, 74%) y lipoperoxidación (30, 93%) comparados con el grupo control (4,75% y 19,49% respectivamente) ⁽⁶⁸⁾. Estos resultados son coherentes con los encontrados por Lipe 2016, en el que hubo un porcentaje de incremento de 34% comparado con el grupo 2007 señaló basal ⁽⁶⁹⁾.

Vogt que, la administración con etanol en ratones machos, disminuía las concentraciones de glutatión hasta en más de un 50% en células hepáticas ⁽⁸⁴⁾. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Flores 2018 ⁽⁷²⁾ quién encontró una concentración disminuida en los valores de glutatión reducido en el grupo que recibió alcohol (25,1%) respecto al grupo control de referencia (48,9%).

Finalmente, los resultados hallados en la relación SOD/CAT en nuestro estudio, son congruentes con los encontrados por Sánchez 2017, quién reportó niveles elevados de SOD y niveles bajos de CAT en el grupo que recibió daño hepático con etanol ⁽⁸¹⁾.

Respecto al grupo tratamiento con Silimarina + etanol (grupo III), se observó una disminución en el índice de crecimiento hepático, así como de la peroxidación lipídica y

la relación SOD/CAT, y un aumento significativo en el perfil de GSH respecto al grupo II.

Estos resultados guardan estrecha relación con los compuestos funcionales con los que se encuentra constituida la Silimarina. El extracto de las semillas y el fruto de *Silybum marianum* (Silimarina) está conformado por siete flavolignanós (sibilina A, sibilina B, isosibilina A, isosibilina B, silidianina, silicristina) y un flavonoide llamado taxifolina, los cuales han sido relacionados con los efectos hepatoprotectores de la planta ⁽⁸⁵⁾.

El efecto hepatoprotector de este extracto, está relacionado con las propiedades antioxidantes de los flavonoides, quienes por su naturaleza fenólica tienen la capacidad de donar electrones a radicales libres, con el fin de estabilizarlos y prevenir la formación de EROS; además, participan en la inhibición de la síntesis de fosfatidilcolina y estimulan la síntesis de proteínas RNA. Además, se ha reportado que la Silimarina presenta actividad antiinflamatoria y anticancerígena y que la sibilina, su principal componente, estimula al RNA polimerasa y al RNA ribosomal a la síntesis de proteínas hepáticas ⁽⁸⁶⁾.

La sibilina representa entre el 50 a 70% de extracto de Silimarina y dentro de sus efectos se ha demostrado que disminuye la fosforilación de la quinasa regulada por señal extracelular (ERK) -1/2 y RSK2, que está regulada por las quinasas MEK1/2. El bloqueo de la señalización de MEK1/2 -ERK1/2 -RSK2 resulta en la activación reducida del factor nuclear-kappa B (NF-kB), la proteína activadora-1 (PA-1) y STAT3. Estas proteínas, han sido relacionadas a efectos reguladores transcripcionales de varios genes proliferativos de melanomas, inhibiendo el ciclo celular en la fase G1 y su replicación in vitro e in vivo ⁽⁸⁷⁾.

Young 2013 demostró que, la Silimarina mejoró el perfil de glutatión por un incremento en su regeneración debido a un aumento en la biodisponibilidad de cisteína y la inducción de su síntesis favoreciendo la formación de homocisteína; mientras se inhibía su catabolismo a taurina ⁽⁸⁸⁾, este mecanismo podría explicar el aumento de los valores del perfil de GSH en el grupo III.

Ramadan en el 2011, corroboró que la administración con solo Silimarina en ratas adultas aumentó los niveles de expresión de SOD, GSH peroxidasa y CAT a dosis de 200mg/kg y 400mg/kg en comparación con sus respectivos grupos basales ⁽⁸⁶⁾. Estos resultados son similares a los niveles de GSH, SOD y CAT encontrados en nuestro estudio.

Sandoval 2008, demostró que el grupo inducido a daño hepático por etanol y administrado con Silimarina, disminuyó los niveles de índice hepático y lipoperoxidación a comparación del grupo que solo recibió etanol. Estos resultados son coherentes con

los niveles de lipoperoxidación, índice hepático y datos histológicos reportados en el grupo III respecto al grupo que solo recibió alcohol (grupo II) ⁽⁶⁰⁾.

Asimismo, Brandon et al. 2012, demostró que en su investigación in vitro con células de carcinoma hepatocelular (HCC), la Silimarina y la silibina mostraron una inhibición significativa de en los niveles de malondialdehído (MDA), comprobando ser eficaz contra el aumento de la peroxidación lipídica en células tratadas con alcohol. Estos resultados son coherentes con los niveles disminuidos de lipoperoxidación obtenidos en el grupo III ⁽⁸⁹⁾.

Por otro lado, Lipe 2016 ⁽⁶⁹⁾ y Torres 2016 ⁽⁶⁸⁾, demostraron que la administración con Silimarina en animales inducidos a daño hepático por etanol, revelaron una disminución en el índice hepático de ambos estudios, pero un aumento en los niveles de lipoperoxidación respecto a sus respectivos grupos que recibieron solo alcohol.

En cuanto a los grupos IV y V que fueron administrados con etanol y cáscara de *Mangifera indica* (mango) en dosis de 100mg/kg y 900mg/kg, respectivamente, se encontró, una disminución en los valores del índice hepático, lipoperoxidación y de la relación SOD/CAT, esto se acompañó con un incremento del perfil del GSH. Asimismo, en el campo histológico se observó columnas hepáticas con macronúcleos y cromatina gruesa, con presencia de conductos biliares bien conformados y distribuidos y células de Küpffer aumentadas en focos de alto poder y con buena distribución, con regeneración de los hepatocitos a nivel de la zona 2 y zona 3 y hiperplasia con proliferación de células hepáticas en el acino hepático.

La cáscara de mango (*Mangifera indica* L.) representa entre el 7 al 24% del peso del fruto ⁽⁴⁰⁾, y en su estructura está conformado por diferentes compuestos, entre ellos, compuestos fenólicos como la mangiferina, isomangiferina, homomangiferina, quercetina y el kaempferol ^(47, 48). Ajila en el 2007, reportó que el extracto acetónico al 80% de la cáscara de mango madura presentó una concentración de compuestos fenólicos de 55-100 mg/g, carotenoides de 194-436 µg/g y antocianinas de 360-565 mg/100g, mientras que para la cáscara de mango inmadura fue de 90-110 mg/g (compuestos fenólicos), 74- 81 µg/g (carotenoides) y 203- 326 mg/100 g (antocianinas), observándose como el estado de maduración del fruto juega un rol importante en la concentración de compuestos con actividad funcional.

Ajila en el 2007, determinó la concentración de los compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas presentes en la cáscara de mango madura e inmadura en solución acetona al 80%, siendo la concentración en la cáscara madura de 55-100 mg/g, 194-436 ug/g y 360-565 mg /100g respectivamente para los compuestos los compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas, mientras que para la cáscara de mango

inmadura fue de 90- 110 mg/g, 74- 81 ug/g y 203- 326 mg/100g para los mismos, observándose como el estado de maduración del fruto juega un rol importante en la concentración de compuestos con actividad funcional ⁽⁴⁷⁾.

En otro estudio, se determinó que el contenido de fibra dietética soluble e insoluble en la cáscara de mango fue de 40,6% a 72,5%, y que la galactosa, glucosa y arabinosa fueron los azúcares neutrales en mayor concentración. También se ha reportado que la concentración de polifenoles es de 8,1 a 29,5 mg/g y flavonoides de 0,101 a 0,392 mg/g respectivamente. Asimismo, Ajila (2013) reportó que la cáscara de mango presenta ácidos fenólicos como el ácido gálico, ácido protocauquético y ácido siríngico, y flavonoides como el kaempferol y la quercetina, y que su concentración varía según el estado de maduración del fruto ⁽⁹⁰⁾.

Los compuestos fenólicos son responsables de otorgar protección ante amenazas ambientales, a través de sus propiedades antimicrobianas, de protección solar y antioxidantes. Esta última se debe básicamente a su capacidad para disminuir el estrés oxidativo mediante la neutralización ROS y RNS, así como también a su capacidad para activar el factor de transcripción Nrf2 que promueve la acción de la SOD, CAT y GSHPx, lo cual podría guardar relación con los resultados obtenidos sobre la lipoperoxidación y de la relación SOD/CAT en los grupos IV y V ⁽⁴⁴⁾.

La mangiferina (C-2-β- d -glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona, también llamada C-glucosil xantona), es uno de los compuestos fenólicos en mayor concentración en la cáscara de mango. Se han encontrado concentraciones de hasta 7.49 mg/g y ha sido relacionada con muchos de sus efectos benéficos en la salud ⁽⁹¹⁾. La mangiferina y sus homólogos AMPK reguladores, cumplen diferentes funciones a nivel hepático, una de ellas es la inhibición de la síntesis de triglicéridos por aumento del RNAm que suprime las vías del SREBP-1c, ácido graso sintetasa, acetil CoA-carboxilasa y lipasa sensible a hormona en preadipocitos ⁽⁹²⁾. La administración vía oral de mangiferina en ratas con hiperlipidemia genera la fosforilación de AMPK y la expresión de sus proteínas en toda la cascada, incluidas la translocasa de ácidos grasos y la carnitina palmitoil transferasa 1 (CPT1) que disminuyen la disponibilidad de ácidos grasos para la síntesis de lípidos, favoreciendo la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos ⁽⁹³⁾, esta vía podría guardar relación con los resultados encontrados a nivel histológico en donde se encontró una leve microesteatosis a nivel del lobulillo hepático clásico y en las columnas hepáticas. Li en el 2018, encontró que la mangiferina a dosis de 100mg/kg y 200 mg/kg disminuyó la acumulación de triglicéridos a nivel hepático ⁽⁹⁴⁾. Estos resultados podrían explicar la inexistencia de alteraciones lipídicas a nivel histológico en los grupos expuestos al daño por etanol.

En otro estudio se evaluó el efecto de la mangiferina (100 mg/kg), observándose la inhibición de la producción de EROS y la reducción de las concentraciones séricas de alanina aminotransferasa (ALT) y alcalina fosfatasa (ALP), demostrando que la mangiferina presenta propiedades antioxidantes y antiapoptóticas por medio de la regulación de las vías MAPK, Nf-kb y mitocondrial ^(95,96).

Rasool (2012) comparó el efecto de la mangiferina (30 mg/kg) vía intraperitoneal con el efecto de la Silimarina en el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono, se encontró que la mangiferina tuvo un efecto protector expresado en una disminución en la concentración de ALT, AST, ALP, bilirrubina y el mediador inflamatorio TNF- β ⁽⁹⁷⁾.

La mangiferina también es capaz de proteger al hígado frente al daño generado por los radicales libres en el mecanismo hipoxia/reperfusión formando complejos mangiferina-Fe⁺³, y neutralizando radicales libres, este mecanismo ha demostrado proveer protección en la peroxidación lipídica ⁽⁹⁸⁾ y podría estar involucrado con los datos encontrados a nivel de la lipoperoxidación en los grupos que recibieron el pulverizado de cascar de mango (grupos IV y V).

Sellamuthu (2013) comprobó que la mangiferina tras su administración oral a 40 mg/kg redujo los niveles de azúcar en sangre e incrementó los niveles de insulina, además de incrementar la respuesta antioxidante y los niveles de SOD, CAT y GSHPx en el hígado de ratas diabéticas ⁽⁹⁹⁾. Estos resultados difieren de los encontrados en nuestra investigación en donde la relación SOD/CAT y el perfil de GSH estuvieron disminuidos, lo cual podría estar relacionado a los diferentes métodos de inducción a daño en ambas investigaciones.

Otros de los componentes encontrados en la cáscara de mango es la quercetina. Dong (2014) reportó que la administración con quercetina disminuyó los niveles de malondialdehído y lipoperoxidación, y aumentó los niveles de SOD en tejido cerebral ⁽⁸⁴⁾. Esto es similar a lo reportado por Heibatullah (2017), quién observó que las fracciones de *Capparis spinosa* L. y Quercetina a 400 mg/kg aumentaron significativamente los niveles de GSH y disminuyeron los niveles de peroxidación lipídica en tejido hepático ⁽¹⁰⁰⁾. Estos resultados son similares a los obtenidos en los grupos IV y V de nuestro estudio y podrían estar relacionados a los niveles bajos de lipoperoxidación e índice hepático, y al aumento del perfil de GSH y la relación SOD/CAT.

En otro estudio, tras la administración oral de rutina y quercetina (10 mg/kg y 20 mg/kg respectivamente), se observó una disminución significativa en el daño del ADN por irradiación gamma, lo cual pone en evidencia su actividad antioxidante, anti lípido-peroxidativa, y neutralizadora de radicales libres ⁽¹⁰¹⁾. Wha et al (2015) en un estudio en hepatocitos, también demostró la capacidad antiradicalaria (GR, GPx y GSH) de la

quercetina de *Firmiana Simplex*, en donde se encontró un perfil de GSH incrementado ⁽¹⁰²⁾. Estos resultados podrían estar relacionados a la tendencia regenerativa dosis-dependiente del perfil GSH encontrada en nuestro estudio.

Chobot (2013) reportó que la quercetina puede tener actividad prooxidante en la mayoría de sus concentraciones ⁽¹⁰³⁾. Se ha reportado que los flavonoides pueden reducir el Fe^{+3} y Cu^{+2} para sufrir autooxidación del radical aroxilo generando el radical hidroxilo, lo cual incrementaría las concentraciones de EROS y estrés oxidativo ⁽¹⁰⁴⁾. Estos resultados podrían estar relacionados a los valores disminuidos del perfil de GSH y de la relación SOD/CAT encontrados en nuestros grupos experimentales.

Finalmente, en otro estudio en donde se indujo daño hepático por ingesta de acrilamida, se ha reportado que la suplementación con quercetina mantiene la estructura de las columnas hepáticas y espacios sinusoides a nivel histológico ⁽¹⁰⁵⁾, lo cual guarda estrecha relación con los resultados encontrados en nuestro estudio en donde se observó regeneración de los hepatocitos a nivel de la zona 2 y zona 3 e hiperplasia con proliferación de células hepáticas a nivel del acino hepático.

Por todo lo anteriormente mencionado el consumo de la pulpa como de la cáscara de mango, podría reflejar mayores beneficios que el consumo solo de la pulpa encontrada en los productos industriales encontrados en nuestro mercado ⁽⁵⁰⁾.

VI. CONCLUSIONES

- La ingesta del pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) presentó efecto hepatoprotector a nivel histológico y del índice hepático.
- La ingesta del pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) mostró una disminución los niveles de lipoperoxidación y de la relación SOD/CAT, así como un incremento en el perfil de GSH.
- La ingesta del pulverizado de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) presenta efecto hepatoprotector sobre la toxicidad hepática inducida por etanol en ratones.

VII. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar pruebas de capacidad antioxidante *in vitro* de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango).
- Se recomienda determinar los perfiles de las enzimas glutatión peroxidasa y glutatión reductasa.
- Se sugiere determinar los valores bioquímicos de lípidos a nivel hepático.
- Se recomienda determinar los niveles séricos de transaminasas (AST y ALT).

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

- (1) Tsochatzis E, Bosch J, Burroughs, A. Cirrosis hepática. The Lancet [Internet]. 2014, Ene. [citado el 24 de May. de 2018]; 383 (9930): pp. 1749-1761. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(14\)60121-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(14)60121-5/fulltext).
- (2) Organización Mundial de la Salud. Las 10 principales causas de defunción. OMS [Internet]. 2018 [citado el 26 de Oct. de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- (3) Organización Mundial de la Salud. Resumen de Información Informe mundial sobre las Hepatitis. OMS [Internet]. 2017 [citado el 26 de Oct. de 2018]. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255897/WHO-HIV-2017.06-spa.pdf?sequence=1>.
- (4) Prieto J, Sánchez S, Prieto R, Rojas E, González L, Mendivelso F. (2016). Características clínicas y descompensación en pacientes con cirrosis hepática atendidos en dos centros de hepatología en la ciudad de Bogotá DC, 2010-2014. Revista Colombiana de Gastroenterología. 2016 Ene; 31(1): pp. 1-8. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v31n1/v31n1a01.pdf>.
- (5) Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla D, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. Journal of hepatology. 2013 Mar; 58(3): pp. 593-608. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23419824>.
- (6) Pimpin L, Cortez-Pinto H, Negro F, Corbould E, Lazarus J, Webber L, Sheron N. Burden of liver disease in Europe: epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. Journal of hepatology. 2018 Set; 69(3): pp. 718-735. Disponible en: <https://asscat-hepatitis.org/carga-de-la-enfermedad-hepatica-en-europa-epidemiologia-y-analisis-de-factores-de-riesgo-para-identificar-politicas-de-prevencion/#>.
- (7) Organización Panamericana de la Salud. Lineamientos básicos para el análisis de la mortalidad. Washington, D.C. 2017. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4255.pdf>.
- (8) Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Características de las defunciones registradas en México durante 2017. Comunicado de prensa. 2018 Oct; 525(18): pp. 1-3. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodemo/DEFUNCIONES2017.pdf>

- (9) Ministerio de Salud. Análisis de las causas de mortalidad en el Perú, 1986-2015. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. 2018 Set. Disponible en: http://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis/Asis_mortalidad.pdf.
- (10) Bustíos C, Dávalos M, Román R, Zumaeta E. Características epidemiológicas y clínicas de la cirrosis hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. Revista de Gastroenterología del Perú. 2007 Set; 27(3): pp. 238-245. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292007000300003.
- (11) Malpica A, Ticse R, Salazar M, Cheng L, Valenzuela V, Huerta J. Mortalidad y readmisión en pacientes cirróticos hospitalizados en un hospital general de Lima, Perú. Revista de Gastroenterología del Perú. 2013 Nov; 33(4): pp. 301-305. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v33n4/a03v33n4.pdf>.
- (12) Castillo O, Flores C. Mortalidad por enfermedades digestivas no neoplásicas en la población adulta del Perú, 2010-2015. Anales de la Facultad de Medicina UNMSM. 2019 Mar; 80(1): pp. 39-44. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v80n1/a07v80n1.pdf>.
- (13) Organización Mundial de la Salud. Alcohol. Centro de prensa OMS [Internet]. 2018 Set. [citado el 24 de Jul. de 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>.
- (14) Organización Panamericana de la Salud. Informe de la situación regional sobre alcohol y la salud en las américas. Washington, D.C. 2015. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/alcohol-Informe-salud-americas-2015.pdf>.
- (15) Ministerio de Salud. Situación de Salud de los Adolescentes y Jóvenes en el Perú. Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública. 2017. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4143.pdf>.
- (16) Pedone F. Hepatopatías crónicas y soporte nutricional. Facultad de Ciencias Médicas Universidad FASTA. 2013 May. Disponible en: <http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/handle/123456789/80>.
- (17) Otero W, Sierra F. El hígado en cirugía. Rev Col Gastroenterol. 2003; 18(4): pp. 230-9. Disponible en: <https://www.gastrocol.com/file/Revista/v18n4a07.PDF>.
- (18) Barrett K, Barman S, Boitano S, Brooks H. Ganong fisiología médica. McGraw-Hill México. 2013. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookID=1800>.
- (19) Mahan L, Raymond J. Krause Dietoterapia. Elsevier. 2017 Mar. Disponible en: <http://www.sennutricion.org/es/2017/12/21/krause-dietoterapia-14-edicin>.

- (20) Aguillón J, Loango N, & Landazuri P. Modelos celulares hepáticos para el estudio del metabolismo de los lípidos. Revisión de literatura. Revista de la Facultad de Medicina. 2019 Mar; 67(1): pp. 109-116. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112019000100109&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- (21) Cubero F, Nieto N. Células de Kupffer y hepatopatía alcohólica. Revista Española de Enfermedades Digestivas. 2006; 98(6): pp. 460-472. http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v98n6/es_punto.pdf.
- (22) Montoro M, García J. Gastroenterología y Hepatología, Problemas comunes en la práctica clínica. 2012. Disponible en: https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/00_portada_prologo_indice.pdf.
- (23) Martínez S. Distribución de las alcohol deshidrogenasas ADH1 y ADH4 en tejidos de rata relevancia en el metabolismo de etanol y retinoides. Universidad Autónoma de Barcelona. 2003. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3482/semr15de15.pdf?sequence=15>.
- (24) Gaviria M, Arango G, Navas M. Alcohol, cirrosis y predisposición genética. Revista Colombiana de Gastroenterología. 2016 Ene; 31(1): pp. 27-35. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v31n1/v31n1a05.pdf>.
- (25) Pérez J, Servín A, Serralde A, Cruz A, Abdo J, Berna F, Salas F. Hepatitis alcohólica. Revista Médica del Hospital General de México. 2009 Oct; 72(4): pp. 215-221. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/h-gral/hg-2009/hg094h.pdf>.
- (26) Sanchez V, Méndez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev Invest Med Sur, Mexico. 2013 Jul; 20(3): pp. 161-168. Disponible en: <http://medicasur.org.mx/pdf-revista/RMS133-AR01-PROTEGIDO.pdf>.
- (27) Montalvo E, García M, Escalante T, Peña J, Vázquez H, Ortega J. Caracterización bioquímica y niveles de lipoperoxidación en el preacondicionamiento hepático. Cirugía y Cirujanos. 2011; 79(2): pp. 132-140. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2011/cc112f.pdf>.
- (28) González M, Betancourt M, Ortiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. Bioquímica. 2000; 25(1): pp. 3-9. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/576/57611797001.pdf>.
- (29) Corrales L, Ariza M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova. 2012 Dic; 10(18): pp. 213- 225. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>.

- (30) Díaz, A. La estructura de las catalasas. REB. 2002 Dic; 22(2): pp. 76-84. Disponible en: [http://www3.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/2003-2_LA%20ESTRUC .pdf](http://www3.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/2003-2_LA%20ESTRUC.pdf).
- (31) Denzoin L, Soraci A, Tapia M. Homeostasis del glutatión. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2013; 47(3): pp. 529-539. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/535/53529349007.pdf>.
- (32) Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Revista chilena de nutrición. 2015 Jun; 42(2): pp. 206-212. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>.
- (33) Rodríguez M. Desafíos para el consumo de frutas y verduras. Revista de la Facultad de Medicina Humana URP. 2019 Abr; 19(2): pp. 105-112. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rfmh/v19n2/a12v19n2.pdf>.
- (34) Vierci G, Ferro E. Capacidad antioxidante total vinculada a la ingesta de frutas y verduras en adultos jóvenes de Asunción, Paraguay. Nutrición Hospitalaria. 2019; 36(1): pp. 118-124. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v36n1/1699-5198-nh-36-01-00118.pdf>.
- (35) Ashwell M. Conceptos sobre Alimentos Funcionales. International Life Science Institute. 2004. Disponible en: <http://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/alimentosfuncionalesILSI.pdf>.
- (36) Rodríguez M, Guerrero M, Sandoval R. Guía técnica del cultivo del mango. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). 2002 Dic. Disponible en: <http://centa.gob.sv/docs/guias/frutales/Guia%20Mango.pdf>.
- (37) Rincón A, Montilla E, Valverde L. Evaluación de dieciséis (16) cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) en los llanos venezolanos. Rev. Agricultura andina. 2008 Dic; 15(08): pp. 3-14. Disponible en: <http://www.revencyt.ula.ve/storage/repo/ArchivoDocumento/agri/n15/articulo1.pdf>.
- (38) Gamboa J, Mora J. Guía para el cultivo del mango (*Mangifera indica* L.) en Costa Rica. 2010. Available from: <http://www.platicar.go.cr/images/buscador/documents/pdf/01/00471-mango.pdf>.
- (39) Maldonado M, Urango L, Arismendi L. Propiedades quimiopreventivas del mango y la manzana en el cáncer de colon. Salud (i) Ciencia. 2014; 20(14): pp. 614-618. Disponible en: <https://www.siicsalud.com/dato/sic/206/128728.pdf>.
- (40) Jaruhul M, Zaidul I, Ghafoor K, Al- Juhaimi F, Nyam K, Norulaini N, Sahena F, Mohd O. Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components:

- A review. Rev. Food Chemistry. 2015; 183(15): pp. 173-180. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615004094?via%3Dihub>.
- (41) Guzmán O, Lemus C, Bugarin J, Bonilla J, Ly J. Composición y características químicas de mangos (*Mangifera indica* L.) destinados a la alimentación animal en Nayarit, México. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 2013; 47(3): pp. 273-277. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193029230009.pdf>.
- (42) Ministerio de Agricultura y Riego. Mango: Crecen exportaciones peruanas. Dirección General de Políticas Agrarias. 2017 May. Available from: <http://minagri.gob.pe/portal/186-exportaciones/evolucion-de-las-exportaciones-de-los-principales/606-mangos>.
- (43) Instituto Nacional de Estadística e Informática. Producción de mango se incrementó en 64.8%. Nota de prensa [Internet]. 2015 Abr. [Citado el 26 Oct. De 2018]. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/produccion-de-mango-se-incremento-en-648-8358/>.
- (44) Lizárraga C, Hernández C. Polifenoles de la cáscara de mango para la acuicultura. Rev. Comunicaciones libres. 2018 Mar; 69(1): pp. 1-6. Disponible en: <https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/online/POLIFENOLES.pdf>.
- (45) Ajila C, Aalami M, Leelavathi K, Prasada Rao U. Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. Rev. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2010 Ene; 11(1): pp. 219-224. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856409001192?via%3Dihub>.
- (46) Maisuthisakul P, Gordon M. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. Rev, Food Chemistry. 2009 Nov; 117(2): pp. 332-341. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609004622>.
- (47) Ajila C, Naidu K, Bhat S, Prasada U. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. Rev. Food Chemistry. 2007; 105(3): pp. 982-988. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607004062>.
- (48) Rocha S, Schieber A. Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.) Rev. Bioactive Foods in Promoting Health: Fruit and Vegetables. 2010; 34: pp. 507-523. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123746283000347?via%3Dihub>.

- (49) Coelho E, Alves M, Corrêa L, Viana A, Calvancati L, Dos Santos Lima M. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mango Peel Liqueurs (*Mangifera indica* L.) Produced by Different Methods of Maceration. *Antioxidants* 2019 Abr; 8(102): pp. 1-11. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3921/8/4/102/htm>.
- (50) Wall-Medrano A, Olivas-Aguirre F, Velderrain-Rodríguez G, Gonzáles-Aguilar A, De la Rosa L, López-Díaz J, Álvarez-Parrila E. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Rev. Nutrición Hospitalaria*, 2015; 31(1): pp. 67-75. Disponible en: <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/7701.pdf>.
- (51) Sudhakar D, Maini S. Isolation and characterization of mango peel pectins. *Journal of food process preservation*. 2000; 24: pp. 209-227. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/227781966_Isolation_and_characterization_of_mango_peel_pectins.
- (52) Schieber A, Hilt P, Berardini N, Carle R. Recovery of pectin and polyphenolics from apple pomace and mango peels. *Rev. Total food Exploiting coproducts minimizing waste*. 2004 Oct; 144-149. Disponible en: http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Publikace/TotalFood_2004.pdf.
- (53) Larrauri J, Rupérez P, Borroto B, Saura-Calixto F. Mango peels as a new tropical fibre: Preparation and characterization. *Rev. Lebensm-Wiss and Technology*. 1996; 29: pp. 729-733. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643896901139>.
- (54) Sumaya T, Sánchez M, Torres G, García D. Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Rev. Mexicana de agronegocios*. 2012 Jun; 30: pp. 826-833. Disponible en: <https://ageconsearch.umn.edu/bitstream/120464/2/4.Articulo-Red-Valor-Mango-Corregido-9Julio.pdf>.
- (55) Kim H, Moon J, Kim H, Lee D, Cho M, Choi H, Kim Y, Mosadik A, Cho S. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Rev. Food*. 2010 Jul; 121(2): pp. 429-436. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609014800>.
- (56) Noratto G, Bertoldi M, Krensek K, Talcott s, Stringheta P, Mertens S. Anticaercinogenic effects of polyphenolics from mango (*Mangifera indica*) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010 May; 58: pp. 4104-4112. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20205391>.

- (57) Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. Mc. Graw Hill. 2014; 6: pp. 53-62.
- (58) López J. Fruto y Semilla Subclase Dilleniaceae, Rosaceae, Caryophyllaceae y Asteraceae. Universidad Autónoma de México. 2016 Oct. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/63022/secme-5145.pdf?sequence=1>.
- (59) Hevia F, Wilckens R, Berti M, Fischer S. Calidad de Cardo Mariano (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) Cosechado en diferentes estados fenológicos. Información Tecnológica. 2007; 18(5): pp. 69-74. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v18n5/art09.pdf>.
- (60) Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). An Fac med. 2008; 69(4): pp. 250-259. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v69n4/a06v69n4.pdf>.
- (61) Buege J. Aust S. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymology 1978; 52; 302-306.
- (62) Suarez S. Detoxificación hepática y defensa antioxidante por efecto de xenobióticos alimentarios. Tesis para obtener el grado académico de Magister en Bioquímica. Facultad de Medicina, UNMSM. Lima, Perú. 1995. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2572/Suarez_cs%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- (63) Boyne A, Ellman G. Assay for glutathione. Anal Biochem. 1972; 46: pp. 639-53
- (64) Marklund S. and Marklund G. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and Convenient Assay for Superoxide Dismutase, Eur J Biochem. 1974; 47: pp. 469-474.
- (65) Aebi H. Catalase in Vitro. Methods in Enzymology. 1947; 105: pp. 121-126.
- (66) Ley Peruana Nro. 30407 de protección y bienestar animal. 2016. Disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/ley-de-proteccion-y-bienestar-animal-ley-n-30407-1331474-1/>.
- (67) Guía de manejo y Cuidado de animales de Laboratorio: ratón. Ministerio de Salud. Centro Nacional de Productos Biológicos. INS. Lima 2008.
- (68) Montañez T, Giordano A. Efecto hepatoprotector del zumo de *Spondias purpurea* "ciruela" variedad roja en ratones inducidos a toxicidad por etanol. Tesis para obtener el título profesional de Licenciado en nutrición. Facultad de Medicina, UNMSM. 2016. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/5052>.

- (69) Lipe Camero, C. R. (2016). Efecto hepatoprotector del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (Sanky) en ratones con daño hepático inducido por etanol. Tesis para obtener el título profesional de Licenciado en Nutrición. Facultad de Medicina, UNMSM. 2016. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/5220>.
- (70) Rosales C, Soria C, Pérez M, Cedillo L, Huacuja L, Beltrán M, De La Luz M. Efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2017; 22(1): pp. 1-14. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v22n1/pla01117.pdf>.
- (71) Jiménez M, Rebolledo G. Efecto hepatoprotector de plantas medicinales y compuestos naturales contra el daño provocados por fármacos antituberculosos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2015; 46(3): pp. 6-15. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/579/57945705002.pdf>.
- (72) Flores C. (2018). Efecto protector de la ingesta de cáscara del *Citrus aurantifolia* (limón) frente al daño hepático inducido por etanol en ratones. Tesis para obtener el título profesional de Licenciado en Nutrición. Facultad de Medicina, UNMSM. 2018. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/8249>.
- (73) Palestino M, Clavijo D, Gutiérrez M, Gómez L. El factor de crecimiento de hepatocitos y su receptor c-met en la protección contra el daño hepático inducido por el alcohol. Revista de Educación Bioquímica. 2012 Jul; 31(4): pp. 118-126. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2012/reb124b.pdf>.
- (74) Zhu H, Jia Z, Misra H, Li Y. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of alcoholic liver disease: updated experimental and clinical evidence. Journal of digestive diseases. 2012; 13(3): pp. 133-142. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3297983/>.
- (75) Gyamfi M, Wan Y. Pathogenesis of alcoholic liver disease: the role of nuclear receptors. Experimental biology and medicine. 2010 May; 235(5): pp. 547-560. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1258/ebm.2009.009249>.
- (76) Galicia-Moreno M, Gutiérrez-Reyes G. Papel del estrés oxidativo en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica. Revista de Gastroenterología de México. 2014; 79(2): pp. 135-144. Disponible en: <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-pdf-S0375090614000329>.
- (77) French S, Oliva J, French B, Li J, Bardag F. Alcohol, nutrition and liver cancer: role of Toll-like receptor signaling. World Journal of Gastroenterology. 2010 Mar;

- 16(11): pp. 1344-1348. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2842526/>.
- (78) Thakur V, Pritchard M, McMullen M, Wang, Nagy L. Chronic ethanol feeding increases activation of NADPH oxidase by lipopolysaccharide in rat Kupffer cells: role of increased reactive oxygen in LPS-stimulated ERK1/2 activation and TNF- α production. *Journal of leukocyte biology*. 2006; 79(6): pp. 1348-1356. Disponible en: <https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.1005613>.
- (79) Mandrekar P, Szabo G. Signalling pathways in alcohol-induced liver inflammation. *Journal of hepatology*. 2009; 50(6): pp. 1258-1266. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168827809001688>.
- (80) Yuan L. Kaplowitz N. Glutathión en enfermedades hepáticas y hepatotoxicidad. *Aspectos moleculares de la medicina*. 2009; 30 (1-2): pp. 29-41 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098299708000629>.
- (81) Sánchez L. Estudio comparativo del estrés oxidativo generado por el consumo de alcohol. El ácido fólico como terapia. Trabajo de fin de grado en Farmacia, Universidad de Sevilla. 2017 Jun. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/64907/Estudio%20comparativo.pdf;jsessionid=93504BBFB15DC4132E64BDE8BA43298A?sequence=1>.
- (82) Conde L, Moshage H, Nieto N. Estrés oxidativo hepatocitario y hepatopatía alcohólica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2008; 100(3): pp. 156-163. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082008000300006&script=sci_arttext&tlng=pt.
- (83) Mani V, Siddique A, Arivalagan S, Thomas N, Namasivayam N. Zingerone ameliorates hepatic and renal damage in alcohol-induced toxicity in experimental rats. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. 2016; 6(3): pp. 125-132. Disponible en: <http://www.ijnpnd.com/article.asp?issn=2231-0738;year=2016;volume=6;issue=3;spage=125;epage=132;aulast=Mani>.
- (84) Vogt B, Richie J, Glutathione depletion and recovery after acute ethanol administration in the aging mouse. *Biochemical pharmacology*. 2007; 73(10): pp. 1613-1621. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295207000664>.
- (85) Vargas N, Madrigal E, Morales Á, Esquivel J, Esquivel C, González M, Morales J. Hepatoprotective effect of silymarin. *World journal of hepatology*. 2014 Mar; 6(3):

- hr/>
- pp. 144-149. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3959115/>.
- (86) Ramadan S, Shalaby M, Afif, N, El-Banna H. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Silybum marianum* plant in rats. *UAVMS*. 2011; 5(6): pp. 541-547. Disponible en: <https://scholar.cu.edu.eg/sites/default/files/shimaaramadan/files/25-1319649745.pdf>.
- (87) Lee M, Huang Z, Kim D, Kim S, Kim M, Lee S, Bode A. Direct targeting of MEK1/2 and RSK2 by silybin induces cell-cycle arrest and inhibits melanoma cell growth. *Cancer Prevention Research*. 2013 May; 6(5): pp. 455-465. Disponible en: <https://cancerpreventionresearch.aacrjournals.org/content/6/5/455.short>.
- (88) Young Y, Kim S, Kim Y, Choi D, Kim Y. Alterations in sulfur amino acid metabolism in mice treated with silymarin: a novel mechanism of its action involved in enhancement of the antioxidant defense in liver. *Planta medica*. 2013; 79(12): pp. 997-1002. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0032-1328704>.
- (89) Brandon E, Eheim A, Foureau D, Walling T, Schrum L, McKillop I. Silibinin (Milk Thistle) potentiates ethanol-dependent hepatocellular carcinoma progression in male mice. *Cancer letters*. 2012; 326(1): pp. 88-95. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383512004399>.
- (90) Ajila C, Rao U. Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *Journal of functional foods*. 2013; 5(1): pp. 444-450. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/257694781_Mango_peel_dietary_fibre_Composition_and_associated_bound_phenolics.
- (91) Luo F, Lv Q, Zhao Y, Hu G, Huang G, Zhang J, Chen K. Quantification and purification of mangiferin from Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars and its protective effect on human umbilical vein endothelial cells under H₂O₂-induced stress. *International journal of molecular sciences*. 2012; 13(9): pp. 11260-11274. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3472743/>.
- (92) Zhang Y, Liu X, Han L, Gao X, Liu E, Wang T. Regulation of lipid and glucose homeostasis by mango tree leaf extract is mediated by AMPK and PI3K/AKT signaling pathways. *Food chemistry*. 2013; 141(3): pp. 2896-2905. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613007279>.
- (93) Niu Y, Li S, Na L, Feng R, Liu L, Li Y, Sun C. Mangiferin decreases plasma free fatty acids through promoting its catabolism in liver by activation of AMPK. *PLOS*

-
- one. 2012 Ene; 7(1): pp. 1-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3264633/>.
- (94) Li J, Liu M, Yu H, Wang W, Han L, Chen Q, Wang T. Mangiferin improves hepatic lipid metabolism mainly through its metabolite-norathyriol by modulating SIRT-1/AMPK/SREBP-1c signaling. *Frontiers in pharmacology*. 2018 Mar; 9, 201: pp. 1-13. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00201/full#B26>.
- (95) Pal P, Sinha K, Sil P. Mangiferin, a natural xanthone, protects murine liver in Pb (II) induced hepatic damage and cell death via MAP kinase, NF-κB and mitochondria dependent pathways. *PloS one*. 2013; 8(2): pp. 1-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3581562/>.
- (96) Du S, Liu H, Lei T, Xie X, Wang H, He X, Wang Y. Mangiferin: An effective therapeutic agent against several disorders. *Molecular medicine reports*. 2018; 18(6): pp. 4775-4786. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/mmr/18/6/4775?text=fulltext>.
- (97) Rasool M, Sabina E, Mahinda P, Gnanaselvi B. Mangiferin, a natural polyphenol protects the hepatic damage in mice caused by CCl 4 intoxication. *Comparative Clinical Pathology*. 2012; 21(5): pp. 865-872. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00580-011-1190-y>.
- (98) Imran M, Arshad M, Butt M, Kwon J, Arshad M, Sultan M. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in health and disease*. 2017; 16(84): pp. 1-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28464819>.
- (99) Sellamuthu P, Arulselvan P, Muniappan B, Fakurazi S, Kandasamy M. Mangiferin from *Salacia chinensis* prevents oxidative stress and protects pancreatic β-cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicinal food*. 2013; 16(8): pp. 719-727. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2012.2480>.
- (100) Kalantari H, Foruozaandeh, H, Khodayar M, Siahpoosh A, Saki N, Kheradmand P. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Capparis spinosa* L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide-induced acute liver damage in mice. *Journal of traditional and complementary medicine*. 2018; 8(1): pp. 120-127. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411017300500>.
- (101) Patil S, Rao N, Somashekarappa H, Rajashekhar K. Antigenotoxic potential of rutin and quercetin in Swiss mice exposed to gamma radiation. *Biomedical journal*,
-

2014; 37(5): pp. 305-313. Disponible en:
http://biomedj.cgu.edu.tw/pdfs/2014/37/5/images/BiomedJ_2014_37_5_305_132_880.pdf.

- (102) Kim J, Yang H, Cho N, Kim B, Kim Y, Sung S. Hepatoprotective constituents of *Firmiana simplex* stem bark against ethanol insult to primary rat hepatocytes. *Pharmacognosy magazine*. 2015; 11(41): pp. 55-60. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4329633/>.
- (103) Chobot V, Kubicova L, Bachmann G, Hadacek F. Versatile redox chemistry complicates antioxidant capacity assessment: Flavonoids as milieu-dependent anti- and pro-oxidants. *International journal of molecular sciences*. 2013; 14(6): pp. 11830-11841. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/6/11830>.
- (104) Jiménez C, Martínez E, Fonseca J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista Facultad Medicina UNAM*. 2009; 52(2): 73-85. Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf>.
- (105) Ansar S, Siddiqi N, Zargar S, Ganaie M, Abudawood M. Hepatoprotective effect of Quercetin supplementation against Acrylamide-induced DNA damage in wistar rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 2016; 16(1): 327-331. Disponible en: <https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-016-1322-7>.

ANEXOS

ANEXO I

Cáscara del *Mangifera indica* H. (mango) del mercado “Tres Regiones” de Carabayllo.



ANEXO II

Descascarado y selección de la cáscara del *Mangifera indica* H. (mango)



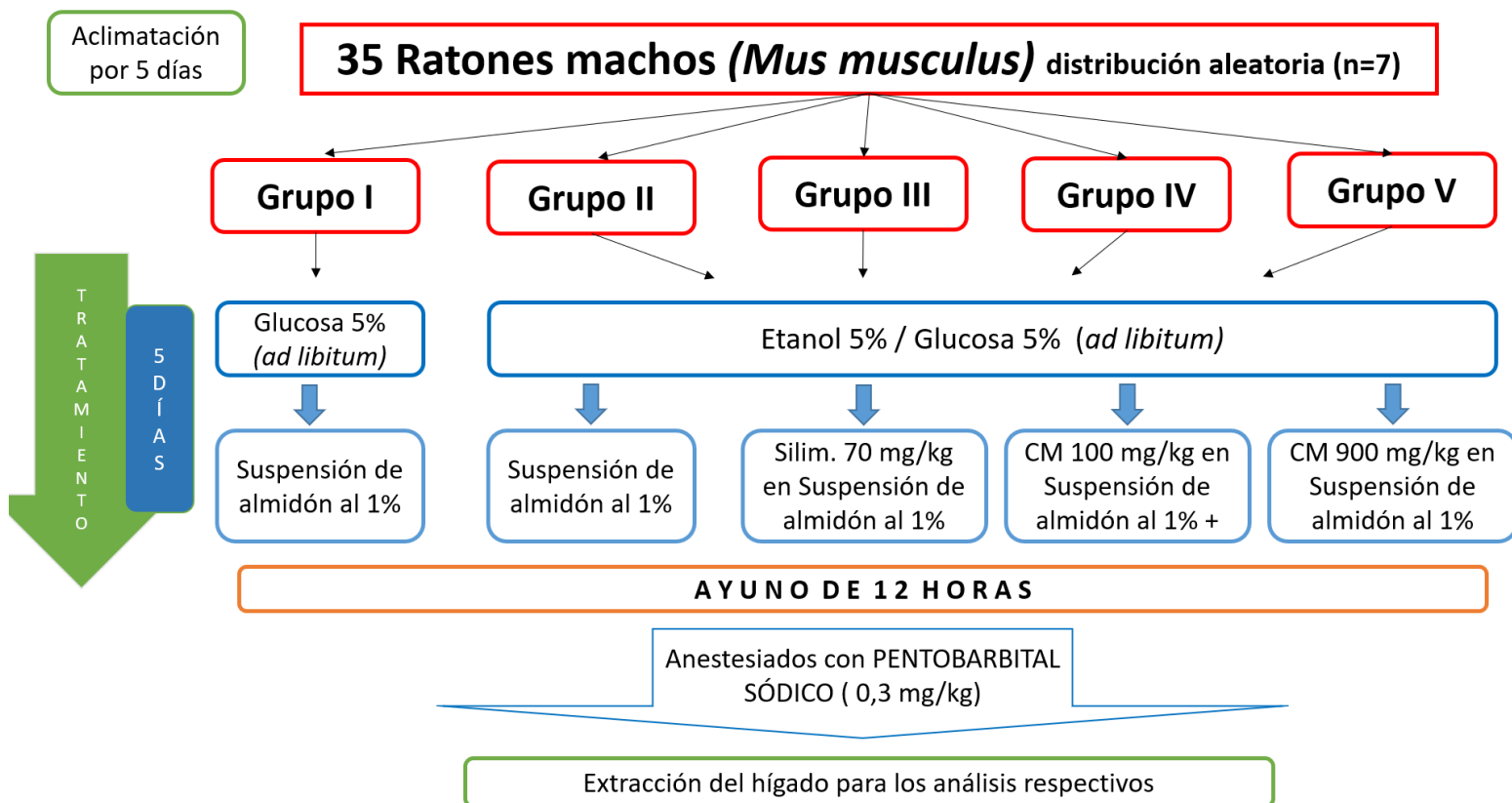
ANEXO III

Procesamiento de los indicadores bioquímicos enzimáticos y no enzimáticos



ANEXO IV

Flujograma del diseño experimental



ANEXO V

Clasificación taxonómica de la planta *Mangifera indica*.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Universalización de la Salud"

CONSTANCIA N° 049-USM-2020

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (frutos), recibida de **JOSSUE HUMBERTO PAREDES CONTRERAS**; estudiante de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como ***Mangifera indica* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016):

ORDEN: SAPINDALES Juss. ex Bercht. & J. Presl

FAMILIA: ANACARDIACEAE R. Br.

GENERO: *Mangifera*

ESPECIE: *Mangifera indica* L

Nombre común: "mango"

Determinada por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente

Lima, 18 de febrero de 2020



Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JACddb